Deutsche Forschung

Aus der Arbeit der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft

(Deutsche Forschungsgemeinschaft)

Heft 23



Untersuchungen über den Stoffwechsel der Pflanzen

II. Mitteilung

Verlag der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft

Für den Buchhandel durch Karl Siegismund Verlag Berlin

1934

Satz und Druck von A. Heine G.m.b.H., Gräfenhainichen

Inhalt

1) Über Saugkräfte in Wüstenböden s. Harder, II, 1, B.

2) Über die Wirkung von Ammoniumsalzen und Nitriten s. Mevius, VII, 2, D u. E. Über Stickstoffbindung s. Benecke, VIII, 1. Über Nitritbakterien s. Engel, VIII, 3.

Seite

Einleitung

Vor etwa vier Jahren sind im achten Heft der „Deutschen Forschung“ (Berlin 1929) die Ergebnisse von Untersuchungen aus verschiedenen Gebieten des pflanzlichen Stoffwechsels veröffentlicht worden, welche mit Unterstützung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft ausgeführt werden konnten. Die Arbeiten, über welche damals berichtet worden ist, handelten im wesentlichen von der Kohlensäureassimilation der grünen Gewächse und von der Chemie des Chlorophyllfarbstoffs, von dem Säure- und Eiweißstoffwechsel, vom Atmungsgaswechsel der Pflanzen, sowie andern Kernproblemen der chemischen Pflanzenphysiologie, endlich von den in theoretischer und praktischer Hinsicht gleich wichtigen Fragen der Saatgutbeizung. Auf den ersten Seiten des genannten Heftes sind die leitenden Gesichtspunkte, die bei der Ausführung dieser Arbeiten maßgebend gewesen waren, kurz hervorgehoben worden: Diese pflanzenphysiologischen Gemeinschaftsarbeiten sollten, auf rein wissenschaftlicher Fragestellung aufgebaut, mit dem exaktesten Rüstzeug physiologischer Forschung durchgeführt werden, im übrigen sollte die Auswahl der Themen und nach Möglichkeit auch der Versuchspflanzen eine solche sein, daß die Ergebnisse dieser Studien auch der wirtschaftlichen, angewandten Botanik zugute kommen. Die Untersuchungen entstammten den Jahren 1926 bis 1929.

Das vorliegende 23. Heft bringt nun von der gleichen Absicht getragene pflanzenphysiologische Arbeiten, welche teilweise als Fortsetzungen der im Heft 8 gebrachten anzusehen sind, teilweise auch neue, damals noch nicht behandelte Probleme des Stoffwechsels der Pflanzen betreffen. Wie ein Blick auf das Inhaltsverzeichnis lehrt, werden auch hier wieder eine große Zahl der verschiedensten Sonderfragen des Pflanzenstoffwechsels behandelt. Es finden sich Mitteilungen aus den Gebieten der Zellphysiologie, des Wasserhaushaltes und mineralischen Stoffwechsels, der Kohlensäureassimilation und der Chlorophyllforschung, des Stickstoff-, Eiweiß- und Säurestoff-

wechsels, der Atmungserscheinungen unter besonderer Berücksichtigung fermentativer Vorgänge; auch die Probleme der Stoffwanderung und manche andere werden herangezogen. Großenteils haben höhere Pflanzen, auch Kulturgewächse, als Versuchsobjekte gedient, daneben aber auch Kleinlebewesen, Bakterien, Pilze, Algen. Teilweise gründen sich die Ergebnisse auf Laboratoriumsversuche, teilweise aber auch auf Beobachtungen und Versuche, die am natürlichen Standorte, sei es in unserer Heimat, sei es in fernen Gegenden, in Wüsten unter extremen Lebensbedingungen, durchgeführt worden sind. Neben Arbeiten mit rein theoretischer Fragestellung finden sich auch einige, welche direkt an wirtschaftliche Fragen — Pflanzenertrag, Düngerlehre — anknüpfen.

Im übrigen müssen die Arbeiten, über deren Ergebnisse die folgenden Blätter berichten, für sich selbst sprechen; es seien daher diese kurzen, einführenden Worte beschlossen mit einem herzlichen Dank an die Notgemeinschaft für die namhaften Zuwendungen, ohne welche die Untersuchungen nicht hätten ausgeführt werden können.

Wilhelm Benecke

I

Probleme der Zellphysiologie

1. Untersuchungen über Reizstoffe bei Pflanzen[1])

Von Hans Fitting

Durch die Vitamin- und Hormonforschungen der letzten Jahrzehnte ist die Aufmerksamkeit der Physiologen auf die sehr wichtige Tatsache gelenkt worden, daß am physiologischen Geschehen, so auch am Stoffwechsel des Organismus, geringe Spuren eigenartiger Stoffe besonderer chemischer Zusammensetzung sehr wesentlich beteiligt sind. Nach ihren Wirkungen kann man alle diese von den Lebewesen gebildeten Stoffe wohl als Reizstoffe bezeichnen. Auch bei den Pflanzen ist seit der Entdeckung des ersten hormonartig wirkenden Körpers (Fitting, 1908), des hitzebeständigen Pollenhormons der Orchideen, das außer dem Abblühen der Blüte vor allem die Verschwellung der Narbe und des ganzen Griffelsäulchens, ja bei manchen tropischen Arten sogar eine gewisse Verschwellung des Fruchtknotens bewirkt, eine ständig größer werdende Zahl weiterer solcher Hormone bekannt geworden. Im Gegensatz zu den Tierhormonen ist es aber bis jetzt noch bei keinem einzigen Pflanzenhormon geglückt, seine chemische Zusammensetzung zu ergründen, weil die reizstoffhaltigen Teile meist zu klein sind, um selbst mikrochemische präparative Methoden erfolgversprechend anwenden zu können. Verheißungsvolle Ansätze in dieser Richtung sind bisher nur bei Wuchsstoffen ganz neuerdings Kögl & Smit gelungen, da sie in der glücklichen Lage waren, in großer Menge verfügbaren Menschenharn für ihre Versuche zu benutzen. Dieser enthält nämlich merkwürdigerweise ziemlich viel bei Pflanzen stark wirksamen Wuchsstoff, den die genannten Forscher für identisch mit dem von der Pflanze gebildeten Wuchsstoff glauben halten zu dürfen.

Wenn sich aus dem obengenannten Grunde auch voraussagen läßt, daß solche Forschungen in der Pflanzenphysiologie und -biochemie zu den sprödesten und schwierigsten Aufgaben gehören werden, die in kürzerer Zeit endgültige Erfolge schwerlich in Aussicht stellen dürften, so ist doch die Frage berechtigt, ob man nicht auch diesen wichtigen Problemen allmählich wenigstens etwas beikommen kann.

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Bonn.

Diese Hoffnung gab mir schon vor etwa 10 Jahren den Anstoß, bei Pflanzen nach Hormonen Ausschau zu halten, bei denen eine derartige experimentelle Bearbeitung in irgendeiner Weise vielleicht gelingen könnte. Besonders günstig dafür würden natürlich solche von der Pflanze gebildete Reizstoffe sein, die in sehr kurzer Zeit auffällige Wirkungen irgendwelcher Art hervorzurufen vermögen und die zugleich im Pflanzenkörper weiter verbreitet sind, sich also am ehesten in größeren Mengen gewinnen lassen.

A. Der Protoplasmaströmung auslösende Reizstoff[1]).

Bei der Suche nach derartigen Stoffen wurde meine Aufmerksamkeit u. a. zunächst besonders auf die Protoplasmaströmung gelenkt, einen der scheinbar primitivsten elementaren Lebensvorgänge in der Pflanzenzelle. Seit langem war bekannt, daß solche Plasmaströmung, abgesehen von anderen Anlässen, vor allem durch Wundreiz geweckt oder verstärkt wird. Der Faktor, der bei der Verwundung eigentlich wirksam wird, war aber ganz unbekannt geblieben. Nahm man auch meist an, daß der mit einer Verwundung stets verbundene mechanische Eingriff das wesentliche sei, so war doch auch, und zwar schon vor langer Zeit (1892), die Vermutung geäußert worden, daß irgendwelche Stoffwechselprodukte, die infolge der Verwundung (oder des Absterbens) von Zellen entstehen könnten, die eigentlich wirkende Ursache seien.

Es gelang mir (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 64, 1925, S. 281 ff.) nach Überwindung sehr vieler Schwierigkeiten, eine bisher fehlende einwandfreie Methodik auszubilden, womit eine Lösung dieser Frage glückte. Ich konnte mit ihr nachweisen, daß bei dem für Plasmaströmung klassisch gewordenen Objekt, der untergetaucht lebenden Wasserpflanze Vallisneria und ihren Verwandten, lebhafte Plasmaströmung („Plasmodinese") in zuvor ruhenden Blattzellen tatsächlich durch Blattextrakte dieser Pflanzen und zwar bis zu erstaunlich geringen Konzentrationen solcher ausgelöst wird. Extraktrückstände aus den Blättern waren nämlich noch bis zu etwa 1:1 und 1:2 Millionen Verdünnung wirksam; entsprechend gab 1 g Blattfrischgewicht in 12 l Wasser ausgekocht noch einen etwas wirksamen Auszug. Der

[1]) Vgl. auch den diese Forschungen zusammenfassenden Aufsatz: Fitting, H., Untersuchungen über den Protoplasmaströmung auslösenden Reizstoff der Pflanzen. Naturwissenschaften. Bd. 21, 1933; S. 489 ff.

Reizstoff ist weitgehend hitzebeständig (er hält mehrfaches Eindampfen auf dem Wasserbad aus), aber gegenüber Bakterien sehr unbeständig und er ist nicht flüchtig. Maximal wirksame Blattextrakte lassen sich in einfacher Weise schon dadurch gewinnen, daß frische Blätter in kochendes Wasser geworfen werden. Der Blattextrakt von Vallisneria ruft lebhafte Plasmaströmung auch in den Zellen der verwandten Gattung Elodea wach, und umgekehrt.

Merkwürdigerweise lösen bei Vallisneria und Elodea Strömung auch äußerst verdünnte wäßrige Extrakte aus Filtrierpapieren verschiedenster Herkunft aus (ebd. 1925), sogar solche aus gehärteten und mit Säuren weitgehend gereinigten Analysenfiltern, z. B. Nr. 589 von Schleicher & Schüll-Düren mit der Bezeichnung „Charta filtratoria acido hydrochlorico et fluorico extracta" mit nur spurenweisem Aschengehalt: Eine solche Filterscheibe von nur 7 cm Durchmesser genügt bei mehrstündiger Auslaugung mit kaltem Wasser, um $^1/_2$—1 l Wasser wirksam zu machen, wenn auch der Reizstoff von der Baumwollfaser des Filtrierpapiers sehr zähe festgehalten wird; bei Behandlung mit kochendem Wasser werden die Filterextrakte daher noch viel wirksamer. Zieht man Filterscheiben oben genannter Nr. 589 mit lauwarmem dest. Wasser aus, so erhält man aus einer solchen von 7 cm Durchmesser durchschnittlich 0,2—0,3 mg trockenen (stickstoffhaltigen!) Rückstand, wovon etwa 78% organische Stoffe sind. Der Schwellenwert dieses Rückstandes liegt bei einer Verdünnung von etwa 1:5 bis 1:10 Millionen. Der wirksame Körper ist wiederum weitgehend hitze-, aber bakterienunbeständig, nicht flüchtig und offenbar eine organische Verbindung.

Nebenher sei weiter darauf hingewiesen, daß selbst chemisch nicht ohne weiteres nachweisbare Spuren von Kupfer dem Wasser die Eigenschaft verleihen, bei Vallisneria sehr lebhafte Plasmaströmung wachzurufen; so ist z. B. Leitungswasser, das einige Zeit in messingenen Wasserleitungshähnen gestanden hat, äußerst wirksam (ebd. 1925). Die Wirkung des Kupfers weicht aber weit von der der Blatt- und Filterextrakte ab: Das Kupfer schädigt nämlich die Blattzellen auf die Dauer und zwar schon in recht hohen Verdünnungen; dies ist dagegen selbst bei stärkeren Konzentrationen der Blatt- und Filterextrakte nicht der Fall. In diesen Extrakten beruhigen sich die strömenden Protoplasten mit der Zeit auch wieder, während sie in kupferhaltigem Wasser viele Tage lang unausgesetzt fieberhaft in Bewegung bleiben. Endlich ist das kupferhaltige Wasser bakterien-

beständig. Aus alledem geht deutlich hervor, daß weder die Filter- noch gar die Blattextrakte ihre Wirkungen etwa darin vorhandenen Kupferspuren verdanken können.

Auch nicht sehr sorgfältig gereinigtes dest. Wasser ruft nach meinen Beobachtungen etwas Strömung in den Vallisneria-Zellen hervor. Diese Tatsache gab mir daher die Anregung, (zunächst für meine Versuche) einen bisher noch fehlenden allgemein brauchbaren Apparat zur Herstellung physiologisch ganz einwandfreien sauberen dest. Wassers zu ersinnen, was in befriedigender Weise gelang[1]). —

Durch diese Untersuchungen war somit in den Blattextrakten der Nachweis eines Plasmaströmung auslösenden Reizstoffes geführt worden, der gleich Hormonen in sehr hohen Verdünnungen noch wirksam ist. Und gerade für diesen Reizstoff schienen sich mir gangbare Wege zu bieten, seine chemische Natur zu ergründen, eine Frage, die ja nunmehr natürlich brennend geworden war. Um sie zu lösen, hielt ich zunächst eine eingehende Ermittlung der chemischen Stoffgruppen für zweckmäßig, die Plasmaströmung („Chemodinese") ähnlich den Blattextrakten noch bis zu sehr hohen Verdünnungen auslösen: Gibt es viele und noch dazu chemisch sehr verschiedene Stoffe, die dies tun, oder nur ganz wenige? Wenn bei einer sehr eingehenden Untersuchung[1]) auch recht verschiedenartige chemische Verbindungen sich als mehr oder weniger wirksam erwiesen, zeigte systematische Prüfung sehr vieler bei den Pflanzen häufiger vorkommender organischer Stoffe doch alsbald, daß eine bei Pflanzen und Tieren allgemein verbreitete Gruppe von Verbindungen, die zum Eiweißstoffwechsel in engster Beziehung stehen, allen anderen geprüften Stoffen in dieser Hinsicht nicht unwesentlich überlegen ist, nämlich eine größere Zahl von α-Aminosäuren, im besonderen das l-Histidin, das l-Asparagin, die d-Glutaminsäure, die l-Asparaginsäure, das Norvalin und das Norleuzin; aber auch das Phenylalanin, das Serin, das Alanin und die Amino-n-buttersäure sind noch recht wirksam. Und zwar lagen in diesen ersten Versuchen die unteren Schwellen der Wirkung bei den erstgenannten 6 Aminosäuren bei 1:30 bis 1:75 Millionen, bei den 4 folgenden zwischen 1:1 und 1:10 Millionen Verdünnung. Viel weniger wirksam (mit Schwellen bis allerhöchstens etwa 1:150000 Verdünnung) sind dagegen Glykokoll,

[1]) Fitting, H., Untersuchungen über Chemodinese bei Vallisneria. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 67, 1927; S. 427ff.

Ornithin, Glutamin, Prolin und Oxyprolin; so gut wie ganz unwirksam endlich sind selbst in verhältnismäßig hohen Konzentrationen Arginin, Lysin, Cystin, Tyrosin, Tryptophan und fast alle dem Eiweiß entstammenden α-Aminosäuren mit verzweigten Kohlenstoffketten, nämlich Aminoisobuttersäure, Valin, Leuzin (und Isoleuzin).

Weiter konnte ich feststellen, daß es sich bei der Auslösung der Plasmaströmung offenbar um eine hochgradige spezifische Empfindlichkeit gerade gegenüber natürlich vorkommenden, optisch-aktiven α-Aminosäuren handelt: Weder die zu den verschiedenen Aminosäuren gehörigen Säuren, Amide, Amine oder anderen Radikale können sich nämlich, sofern sie überhaupt etwas wirksam sind, was bei vielen von ihnen aber gar nicht der Fall ist, auch nur annähernd mit den α-Aminosäuren messen, noch auch die β, γ, ... ω-Aminosäuren (solche sind um so unwirksamer, je weiter entfernt die Aminogruppe —NH_2 vom α-Kohlenstoffatom sich befindet) oder selbst die unnatürlichen optisch-aktiven Antipoden der natürlich vorkommenden stark wirksamen Komponenten[1]). Denn bei solchen unnatürlichen optisch-aktiven Säuren lagen die unteren Schwellen für das l-Alanin (400—)1000 mal, für die d-Asparaginsäure (50—)200 mal und für das d-Histidin (20)30—50mal höher als bei den natürlichen Antipoden.

Diese Einsichten boten nun eine Möglichkeit zu weiteren Fortschritten bei der Analyse der in den Blattextrakten wirksamen Reizstoffe. Alle meine bisher besprochenen Forschungen auf dem Gebiete der Plasmaströmung, ebenso wie die von mir veranlaßten Untersuchungen Schweickerdts über die Auslösung der Plasmaströmung durch Licht[2]) drängten mich zu der Vorstellung, daß es sich bei diesem Vorgang um eine typische Reizerscheinung handelt. Von gleichartigen Reizreaktionen in einem Organ, die durch sehr verschiedengeartete Reizanlässe ausgelöst werden können, wissen wir aber, daß dafür in dem Organ untereinander verschiedene Sensibilitäten („Empfindungsarten") ausgebildet zu sein pflegen, so z. B. in dem sowohl geo- wie phototropisch sich krümmenden Stengel eine für die Schwerkraft und eine davon verschiedene für Licht. Das gleiche hat sich für Reizprozesse nachweisen lassen, die durch chemische Stoffe geweckt werden, so besonders für die Chemotaxis: Wo z. B. ein Bakterium oder eine

---

[1]) Fitting, H., Über die Auslösung von Plasmaströmung durch optisch-aktive Aminosäuren. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 70, 1929; S. 1ff.

[2]) Schweickerdt, H., Untersuchungen über Photodinese bei Vallisneria spiralis. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 68, 1928; S. 79ff.

Schwärmspore durch chemisch sehr verschiedene Verbindungen positiv chemotaktisch angelockt wird, sind meist auch ganz verschiedene Sensibilitäten für solche Stoffgruppen vorhanden. Das zeigt sich z. B. darin, daß chemische Verbindungen, für welche die Sensibilität gleich ist, aufeinander abstumpfend wirken, ebenso wie es bei einem und demselben Reizanlaß (Licht und Licht) stets beobachtet wird, während eine solche wechselseitige Abstumpfung zwischen zwei chemischen Verbindungen begreiflicherweise fehlt, wenn die Empfindungsarten dafür ganz verschieden sind. Ist die Plasmaströmung also ein typischer Reizvorgang, so darf man wohl voraussagen, daß für sie gleiches oder mindestens ähnliches gilt wie z. B. für die Chemotaxis, nämlich, daß der in den Blattextrakten wirksame Reizstoff abstumpfend wie gegen sich selbst, so auch vor allem gegen solche chemische Verbindungen wirken werde, die ihm chemisch verwandt sind, und umgekehrt. Sollte also der wirksame Stoff etwa zu den α-Aminosäuren gehören, eine Vermutung, die meine oben mitgeteilten Befunde nahelegte, so müßte er wohl vor allem durch solche Säuren mehr oder weniger abgestumpft werden.

Voraussetzung für eine experimentelle Prüfung dieser wichtigen Frage war es freilich, daß die Plasmaströmung zu denjenigen Reizreaktionen gehört, die man Übergangsreaktionen genannt hat. So heißen Reizreaktionen, die trotz ständigem Fortwirken des Reizanlasses, der sie auslöste, allmählich wieder völlig abklingen. Dieser Nachweis gelang nun zunächst Schweickerdt bei der Plasmaströmung wenigstens für gewisse Lichtwellen des sichtbaren Spektrums und danach mir, nachdem in beharrlicher Arbeit auch dafür eine brauchbare Methode ausgearbeitet worden war, zunächst für einen chemischen Anlaß, das Asparagin[1]): Vallisnerienblätter, in deren Zellen Asparaginlösungen geringer Konzentration sehr lebhafte Strömung geweckt hatten, kamen in eben diesen Lösungen, selbst wenn dafür gesorgt wurde, daß ihre Konzentrationen sich während der Versuche nicht veränderten, allmählich, wenn auch erstaunlich langsam, wieder völlig zur Ruhe. Wurde nunmehr die Asparaginlösung durch eine gleich starke ersetzt, so trat natürlich in den Zellen keine Veränderung ein; wurden dagegen etwas höhere Asparaginkonzentrationen genommen, so lösten diese wieder Strömung aus, sofern der Schwellenwert überschritten wurde. Und diese Unterschiedsschwellen wurden

[1]) Fitting, H., Untersuchungen über die Natur der chemodinetischen Reizung und über die Unterschiedsschwellen für l-Asparagin. J. f. Bot. Bd. 23, 1930; S. 328ff.

bereits bei Verdoppelung bis Verdreifachung der Konzentrationen erreicht; sie sind also, verglichen mit Unterschiedsschwellen bei anderen pflanzlichen Reizreaktionen, ziemlich klein. Das Bestehen einer Unterschiedsschwelle zeigt überzeugend, daß in den Blättern mit der Zeit eine gewisse Abstumpfung für das Asparagin stattgefunden hatte. Nunmehr war die Möglichkeit zur Entscheidung der Frage gegeben, ob und wie weit in entsprechender Weise auch eine wechselseitige Abstumpfung verschiedenartiger chemischer Verbindungen bei der Plasmodinese vorkommt.

Ehe zu solchen Versuchen auch Blattextrakte herangezogen werden konnten, war es aber offenbar zunächst weiter erforderlich, das wechselseitige Abstumpfungsvermögen wohl definierter chemischer Verbindungen, etwa derjenigen verschiedenen Aminosäuren, die stark wirksam sind, mit Hilfe dieser Methode genauer zu erforschen, auch schon um die Größe der Empfindlichkeit und des Unterscheidungsvermögens der Vallisnerienprotoplasten für die verschiedenen natürlichen α-Aminosäuren noch genauer als bisher kennen zu lernen. Das Ergebnis entsprechender Untersuchungen[1]) war für das Reizstoffproblem, wie mir scheint, sehr wichtig. Alle geprüften α-Aminosäuren, mochten sie chemisch auch noch so verschieden sein, stumpften einander, sofern sie überhaupt wirksam waren, mehr oder weniger ab; und zwar geht das Abstumpfungsvermögen im allgemeinen der Stärke ihrer chemodinetischen Wirksamkeit parallel, die man z. B. aus den Größen der absoluten Schwellenwerte und der Unterschiedsschwellen, aus den Intensitäten der ausgelösten Reaktionen und aus der Nachhaltigkeit der ausgelösten Strömung erschließen kann. Um die Stärke des Abstumpfungsvermögens sicher feststellen zu können, erwies es sich aber als unbedingt erforderlich, die Abstumpfungsversuche stets in reziproken Richtungen auszuführen, und zwar deshalb, weil solche Versuche A → B anders ausfallen können als B → A, und ferner, zu hohe Aminosäurekonzentrationen zu vermeiden, weil in Bestätigung früherer Beobachtungen von mir merkwürdigerweise solche höhere Konzentrationen vieler Aminosäuren (wie schon etwa 0,01—0,001 mol) im Gegensatz zu weit geringeren (wie etwa 0,00001 oder 0,000001 mol) keine Plasmaströmung mehr wecken und entsprechend auch nicht mehr abstumpfend auf die anderen Amino-

[1]) Fitting, H., Untersuchungen über die Empfindlichkeit und das Unterscheidungsvermögen der Vallisnerienprotoplasten für verschiedene Aminosäuren. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 77, 1932; S. 1ff.

säuren wirken; man muß demnach bei den Aminosäuren außer einer unteren Reizschwelle auch eine obere Schwelle der Wirkung unterscheiden.

Meine Versuche zeigten also in aller Klarheit, daß bezüglich der Empfindlichkeit der Zellen und des wechselseitigen Abstumpfungsvermögens der Säuren eine abgestufte Rangordnung unter den wirksamen α-Aminosäuren besteht, und daß die lebenden Zellen entsprechend auch überraschend fein zwischen den einzelnen, wirksamen und unwirksamen Aminosäuren zu unterscheiden verstehen und zwar selbst solchen, die miteinander chemisch sehr nahe verwandt sind, wie z. B. zwischen Alanin und Serin, Phenylalanin und Oxyphenylalanin, Asparagin und Glutamin usw. Und zwar erwies sich an Tiefe der absoluten unteren Reizschwelle, an Kleinheit der Unterschiedsschwelle, an Reaktionsintensität und an Nachhaltigkeit der ausgelösten Wirkung sowie endlich an Wirksamkeit gegenüber den übrigen Aminosäuren, worin die Zellen sich zuvor wieder beruhigt haben, das l-Histidin allen anderen Säuren *weit* überlegen. Diesem schließen sich, aber erst in großem Abstande, das l-Asparagin, ihm in sehr kleinem das raz.-Norvalin und das raz.-Phenylalanin an; allen diesen Säuren ein wenig unterlegen sind alsdann das raz.-Serin, die l-Asparagin- und die d-Glutaminsäure sowie das raz.-Norleuzin, die sämtlich untereinander sehr ähnlich stark sind und entsprechend sich wechselseitig auch nahezu völlig abstumpfen; ihnen wieder folgen in größerem Abstande das noch schwächere raz.-Alanin und die raz.-Amino-n-buttersäure, und in noch größerem endlich das raz.-Glykokoll.

Aus allen diesen Beobachtungen habe ich geglaubt, schließen zu müssen, daß für sämtliche α-Aminosäuren die Sensibilität doch gleich ist (eben weil sie sich gegenseitig abstumpfen), und daß nur die *Intensitäten* der Erregung, die durch gleiche Konzentrationen der verschiedenen Säuren ausgelöst werden, bei den einzelnen Säuren verschieden sind. Die Folgerung, daß die Sensibilität für alle geprüften Aminosäuren identisch ist, würde ohne weiteres einleuchten, wenn die chemodinetische Wirkung dieser Säuren *nur* von der, allen sehr wirksamen Aminosäuren gemeinsamen, Aminosäuregruppe $-\overset{\displaystyle H}{\underset{\displaystyle NH_2}{C}}-COOH$ abhinge. Dies ist aber offenbar nicht der Fall; vielmehr weisen mancherlei Tatsachen darauf hin, daß die Wirkung vom *ganzen* Molekül,

nicht nur von seinen Radikalen oder einem derselben ausgeht. So scheint also aus einer Reihe von Gründen, die hier nicht näher erörtert werden können, der Schluß sich aufzudrängen, daß unter den Aminosäuren chemisch recht verschiedene Moleküle, wie etwa Histidin, Phenylalanin oder Asparagin, doch durch Vermittlung der gleichen Sensibilität (Erregungsart) Plasmaströmung auslösen. Da Analoges auch bei der Chemotaxis für einige chemische Verbindungen ungleich verschiedenerer Zusammensetzung und zwar selbst bei solchen Bakterien oder Schwärmern beobachtet worden ist, wo wir gleichwohl gesonderte Sensibilitäten wenigstens für gewisse chemische Stoffgruppen finden, läßt sich natürlich nicht ohne weiteres beurteilen, ob nicht für sämtliche plasmodinetisch wirksamen Stoffe verallgemeinert werden muß, was mit großer Wahrscheinlichkeit bezüglich der Plasmaströmung für die Aminosäuren ausgesagt werden kann. Infolgedessen habe ich nunmehr auch noch die wechselseitige Abstumpfung solcher Säuren, und zwar im besonderen des l-Histidins und des raz.-Phenylalanins, mit mehr oder weniger andersartigen Verbindungen untersucht, die ebenfalls, wenn auch nicht so stark wie jene, chemodinetisch wirksam sind[1]. Alle dabei geprüften Verbindungen (Nichtaminosäuren), mochten sie mit diesen beiden Aminosäuren verwandt sein oder nicht, stumpften nun sogar in verhältnismäßig hohen Konzentrationen selbst weitgehend verdünnte Histidin- oder Phenylalaninlösungen nur sehr geringfügig ab; umgekehrt wirkten auch solche Histidin- oder Phenylalaninlösungen auf chemodinetisch wirksame Nichtaminosäuren nur in äußerst geringem Maße oder so gut wie gar nicht abstumpfend. In dieser letzteren Hinsicht unterschieden sich die Ergebnisse dieser Versuche also wesentlich von denen der früheren Abstumpfungsversuche Aminosäuren ⇄ Aminosäuren. Vielleicht darf man daraus wirklich auf Unterschiede in den Empfindungsarten für verschiedene Gruppen von Verbindungen schließen.

Nach allen meinen Erfahrungen, über die ich vorstehend berichtet habe, lag es nunmehr gewiß am nächsten, das l-Histidin, also den von sämtlichen bisher geprüften chemischen Verbindungen bei weitem wirksamsten Körper mit einer unteren Schwelle bis zu 1:260, ja manchmal sogar 1:650 Millionen Verdünnung (wie meine neueren Messungen mit verbesserter Methode ergeben haben) als das auch in

[1] Fitting, H., Untersuchungen über den Plasmaströmung auslösenden Reizstoff in den Blattextrakten von Vallisneria. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 78. 1933; S. 319ff.

den Blattextrakten wirksamste chemische Prinzip anzunehmen. Erfreulicherweise unterscheidet sich das Histidin außer durch die Stärke zugleich auch noch durch einige andere Besonderheiten seiner chemodinetischen Wirkung mehr oder weniger von den anderen Aminosäuren, so daß eine Reihe von Anhaltspunkten gewonnen war, um diese Vermutung nun auf ihre Richtigkeit näher prüfen zu können. Wertvolle Anzeichen dafür, ob in den Blattextrakten Histidin oder andere, etwa ebenfalls den Eiweißstoffen entstammende, Aminosäuren als wirksame Verbindungen enthalten sein könnten, müßten ja vor allem wieder Abstumpfungsversuche liefern, wobei nun also die wechselseitige Abstumpfung des Blattextraktes und der verschiedenen Aminosäuren zu ermitteln wäre. Zur Fortsetzung der Untersuchung in solchen Richtungen mußte übrigens schon die in dieser Hinsicht wichtige Entdeckung anregen, daß in den Vallisnerienblättern hitzebeständige und nicht flüchtige Stoffe vorhanden sind, die im Laufe von Stunden an das die lebenden Blätter umspülende Wasser abgegeben werden und die sowohl Plasmaströmung auslösen, als auch die Empfindlichkeit gegen solche α-Aminosäuren wie l-Histidin und raz. Phenylalanin herabsetzen, also abstumpfend auf diese wirken. Daß diese Stoffe mit den in den Blattextrakten wirksamen identisch sind, liegt wohl auf der Hand.

Folgender indirekter und zwar verhältnismäßig wenig mühsamer Weg schien sich also jetzt vor allem darzubieten, um dem Wesen des Reizstoffes in den Blattextrakten etwas näher zu kommen. Gehört dieser Stoff in der Tat zu den Aminosäuren, so müßte sich wenigstens mit einer oder einigen solchen eine vollständige wechselseitige Abstumpfung nachweisen lassen. Wäre der Reizstoff etwa das Asparagin oder eine andere chemodinetisch nahezu gleich starke oder ausgesprochen schwächere Aminosäure als dieses, so müßte nach den oben besprochenen Ergebnissen meiner Abstumpfungsversuche mit Aminosäuren das Asparagin in allen diesen Fällen völlig abstumpfen, da es ja eben an Stärke seiner abstumpfenden Wirkung alle anderen Aminosäuren, ausgenommen das Histidin, umschließt. Sollte dagegen das Asparagin nur wenig abstumpfen, der Reizstoff also stärker sein als dieses, so käme von den untersuchten α-Aminosäuren, ja allen bisher bekannt gewordenen hoch wirksamen Verbindungen überhaupt bloß noch das ihm chemodinetisch überlegene Histidin in Betracht. Es bliebe also jetzt noch die Frage zu lösen, ob sich der Reizstoff und das Histidin völlig oder nahezu ganz gegenseitig abstumpfen.

Sollte dies der Fall sein, und sollte sich alsdann ferner auch noch nachweisen lassen, daß der Reizstoff in den Blattextrakten ganz oder auch nur sehr weitgehend die gleichen besonderen chemodinetischen Eigenschaften wie das Histidin besitzt, so würde man in diesen Tatsachen doch wohl wichtige Hinweise darauf besitzen, daß dieser Reizstoff Histidin ist, oder, da man bei physiologischen Indizienbeweisen nicht vorsichtig genug sein kann, zum mindesten darauf, daß der Reizstoff ein vielleicht dem Histidin sehr nahe verwandter chemischer Körper ist, dessen chemodinetischen Eigenschaften nur die des l-Histidins von allen bekannt gewordenen hochwirksamen chemischen Verbindungen gleich oder besonders nahe kommen. Und nunmehr könnte man mit chemischen Methoden vielleicht weiter feststellen, nicht nur ob wirklich Histidin in den Blattextrakten vorhanden ist, sondern auch, ob es quantitativ in hinreichenden Mengen darin vorkommt, um die Stärke der chemodinetischen Wirksamkeit der Blattauszüge zu erklären; denn gerade für das Histidin unter den Aminosäuren verfügt man über eine Methode, um, wenigstens unter gewissen Bedingungen, selbst geringe Mengen davon qualitativ, ja sogar quantitativ ausreichend erfassen zu können.

Untersuchungen in allen diesen Richtungen haben nun folgende Tatsachen ergeben. Die Schwelle der mit bester Methode gewonnenen Blattextraktpulver liegt bei 0,00005% Konzentration so tief, daß von allen bisher bekanntgewordenen chemodinetisch wirksamen Verbindungen überhaupt nur hochwirksame Aminosäuren als Reizstoff in Betracht kommen können. Denn bei den wirksamsten Nichtaminosäuren haben die Schwellenkonzentrationen einen Gehalt von mindestens 0,0005—0,0001%. Entsprechend läßt sich auch eine weitgehende wechselseitige Abstumpfung zwischen dem Blattextrakt von Vallisneria und den Aminosäuren wirklich nachweisen, und zwar ist der Blattextrakt chemodinetisch stärker als das l-Asparagin und als das diesem, wie wir sahen, sehr nahestehende raz.-Phenylalanin. Ihm kommt in dieser Hinsicht und auch in der Nachhaltigkeit der Wirkung unter den Aminosäuren nur das l-Histidin nahezu gleich. Der Reizstoff gehört also zu den chemodinetisch allerwirksamsten Verbindungen. Entsprechend ist seine Unterschiedsschwelle (1,5—1,7) nur wie beim Histidin kleiner als 2, wenn auch anscheinend nicht ganz so klein wie bei dieser Aminosäure (etwa 1,25).

Würde der Reizstoff des Blattextraktes nicht das Histidin sein, so wäre es mehr als merkwürdig, wenn die abstumpfenden Wirkungen

des Blattauszuges gegenüber den Aminosäuren und anderen Verbindungen ausgemacht die gleichen oder nahezu die gleichen Eigenarten zeigten, wodurch sich ausschließlich das Histidin von allen anderen geprüften Verbindungen, und zwar selbst den nächststärksten, wie dem Asparagin und dem Phenylalanin, so auffällig unterschied. Außer der Abstumpfung sind aber auch die zahlenmäßigen Übereinstimmungen der gesamten sonstigen chemodinetischen Eigenschaften des Blattextraktes gerade und nur mit dem Histidin überraschend weitgehend, wenn auch, soweit ich sehen kann, nicht in allen Stücken ganz vollkommen.

Alle meine Versuche machen nun auch eine ziemlich genaue Einschätzung des Histidingehaltes im Blattextrakt möglich. Folgende Zahlen stehen dafür u. a. zur Verfügung. Es entsprachen einander:

	l-Histidin mol		Blattextrakt %
a) nach den unteren Schwellen	etwa $0{,}0^51$	=	$0{,}0^21$
b) nach den Abstumpfungsversuchen Histidin → Extrakt	etwa $0{,}0^51$	=	$0{,}0^36$—$0{,}0^38$
c) nach den Abstumpfungsversuchen Extrakt → Histidin	etwa $0{,}0^51$	=	$0{,}0^22$
d) nach den Abstumpfungsversuchen Asparagin → Extrakt und Asparagin → Histidin	etwa $0{,}0^51$	=	$0{,}0^21$—$0{,}0^22$
e) nach den Abstumpfungsversuchen Galakturonsäure[1]) → Extrakt und Galakturonsäure → Histidin	etwa $0{,}0^51$	=	$0{,}0^22$.

Wie man sieht, stimmen die Blattextrakte, die 0,000001 mol l-Histidin in meinen sehr verschiedenartigen Versuchen gleichwertig sind, so gut miteinander überein, wie man es bei physiologischen Versuchen nur immer erwarten kann. Aus methodischen Gründen scheinen mir die sichersten und genauesten die der Versuche d) und e) zu sein. Da $0{,}0^51$ mol l-Histidin (Mol.-Gew. 155,1) $0{,}0^41551$% dieser Verbindung enthalten, würden also in 0,001—0,002% Blattextrakt etwa diese Menge, d. h. 1,551—0,775%, rund etwa 1% Histidin, anzunehmen sein.

---

[1]) Diese Verbindung wurde u. a. gewählt, weil sie chemodinetisch etwas wirksam ist (Schwelle bei etwa 0,05 mol), mit den Aminosäuren chemisch aber gar nichts zu tun hat.

Der sichere direkte Beweis dafür, daß in den Blattextrakten tatsächlich Histidin und zwar in den Mengen vorhanden ist, wie es die Wirksamkeit der Extrakte verlangt, steht freilich noch aus; denn es ist mir bisher trotz manchen Bemühungen leider nicht geglückt, mit chemischen Mitteln diese Verbindung in den Blattauszügen von Vallisneria aufzufinden. Entweder versagt also die verfügbare Methode zum Nachweis des Histidins unter solchen Bedingungen, wie sie in den Blattextrakten vorliegen (und den Beleg dafür habe ich in der Tat in Händen), oder aber es gibt doch noch unbekannte vielleicht mit dem Histidin mehr oder weniger nahe verwandte chemische Verbindungen mit ähnlich ungewöhnlicher chemodinetischer Wirksamkeit und überhaupt mit ganz ähnlichen chemodinetischen (und abstumpfenden) Eigenschaften wie das Histidin.

Kann hier also leider noch nicht das letzte Wort gesprochen werden, so haben meine Forschungen, über die ich in diesem Aufsatz kurz berichtet habe, doch wohl gezeigt, daß es auf den von mir eingeschlagenen Wegen möglich gewesen ist, ziemlich tief in fesselnde, aber einer experimentellen Behandlung zunächst schwer zugänglich erscheinende physiologische Probleme einzudringen. Vor allem haben sie uns in einigen Aminosäuren, d. h. überall im Stoffwechsel bei Pflanzen und Tieren vorkommenden Bausteinen und Spaltprodukten der Eiweißstoffe, im besonderen im Histidin außerordentlich wirksame Reizstoffe kennen gelehrt. Und es ist durch sie zum mindesten sehr wahrscheinlich gemacht worden, daß das wirksame Prinzip in den Blattauszügen von Vallisneria eine solche Aminosäure, nämlich das Histidin, oder eine Histidinverbindung ist. Ob diese Aminosäure auch in den Filtrierpapieren der wirksame Reizstoff ist, läßt sich dagegen mangels entsprechender Untersuchungen noch nicht übersehen, ebensowenig, wie und woraus der Reizstoff in den verwundeten Vallisnerienzellen sich bildet.

Bisher galten die Aminosäuren als physiologisch besonders indifferente Verbindungen, wenn auch Abbauprodukte von ihnen, wie z. B. das Histamin und einige andere den Aminosäuren nahestehende Amine oder den Aminosäuren noch näher verwandte Verbindungen, wie das Thyroxin, sich im Tierkörper als äußerst wirksame Hormone erwiesen haben. Daß sich die Wirkungen der Aminosäuren, die in überraschend hohen Verdünnungen Plasmaströmung auszulösen vermögen, über den engen Rahmen dieser Erscheinung hinaus und zwar in entsprechend geringfügigen Mengen auch auf andere physiologische Vorgänge im Pflanzenkörper, zum mindesten bei gewissen Gewächsen,

erstrecken werden, war mir nach meinen Erfahrungen von vornherein um so wahrscheinlicher, weil mehr oder weniger enge Beziehungen zwischen der Plasmaströmung und anderen physiologischen Vorgängen in den Pflanzen bestehen dürften. Diese Vermutung hat denn auch bald Bestätigungen gefunden, und zwar zunächst durch eigene Beobachtungen bei ganz andersartigen Gewächsen und Reaktionen; darüber soll sogleich noch kurz berichtet werden. Noch wichtiger ist aber im Hinblick auf meine Forschungen über die Auslösung von Protoplasmaströmung bei Wasserpflanzen der Nachweis Schwabes (Protoplasma Bd. 16, 1932; S. 397ff.), daß die Atmung einiger Wasserpflanzen, darunter auch der mit Vallisneria nahe verwandten Wasserpest (Elodea), durch einige Aminosäuren stimuliert wird, und zwar soll es sich dabei um eine spezifische Wirkung solcher Säuren handeln. Bei Elodea steigerten die Atmung besonders stark Alanin, Phenylalanin und Tyrosin, das Histidin allerdings verhältnismäßig sehr wenig. Untere Schwellen für die atmungssteigernden Wirkungen konnten leider nicht bestimmt werden; jedoch ließ sich zeigen, daß schon recht geringe Konzentrationen (z. B. 0,0002—0,001 mol) die Atmung wesentlich erhöhen. Ganz besonders wichtig ist die Beobachtung, daß die Wirkungen mit steigenden Konzentrationen wieder abnehmen, so daß also außer unteren Schwellen auch obere solche vorkommen, die bei den einzelnen Aminosäuren verschiedene Lagen haben. „Einen besonders interessanten Verlauf zeigt die Atmung von Elodea in den Asparaginsäurelösungen ... Außer einer oberen Wirkungsschwelle bei ungefähr $^{3}/_{1000}$ mol bis $^{6}/_{1000}$ mol hat man ein Minimum der atmungssteigernden Größe zwischen $^{1}/_{100}$ mol und $^{3}/_{200}$ mol, bei $^{1}/_{50}$ mol wächst die atmungssteigernde Größe wieder." Ganz Entsprechendes hatte ich schon 1927 bezüglich der Wirkung mehrerer Aminosäuren auf die Protoplasmaströmung gefunden! Man geht also wohl nicht fehl mit der Annahme, daß mit der Auslösung der Plasmaströmung eine Atmungssteigerung verbunden ist. Daß die letztere nicht bei so hohen Verdünnungen der Aminosäuren nachgewiesen werden kann wie die erstere, mag in der geringen Genauigkeit der Meßmethoden für die Atmung begründet sein.

B. Reizstoff der Mimose

Die Erfahrungen, die ich bei Vallisneria im Laufe der Zeit gewann, gaben mir den Anlaß, mich nunmehr auch mit dem Reizstoff-

problem bei der Mimose zu beschäftigen. Man verdankt dem Italiener Ricca (1916) den Nachweis, daß bei dieser „Sinnpflanze" die gleichen Blattbewegungen, die nach Erschütterung oder durch Verwundung der Blätter zustande kommen, auch durch Blattextrakte der Mimose ausgelöst werden können, die man von abgeschnittenen Sprossen aufsaugen läßt. Weiter waren Riccas Beobachtungen indes niemals verfolgt worden. Ich habe daher zunächst einmal an abgeschnittenen Blättern der Mimose die Wirksamkeit des offenbar in den Blattextrakten vorhandenen Reizstoffes genauer studiert[1]). Dabei zeigte sich, daß er ähnlich wie andere Hormone noch in sehr hohen Verdünnungen wirksam ist. Für sehr empfindliche Blätter wurde nämlich die untere Schwelle in Extrakten gefunden, die aus 1 g Blattfrischgewicht in 5 l Wasser gewonnen worden waren. Schätzungsweise wird man danach die untere Schwelle für den Reizstoff noch unterhalb 1:1 Million Verdünnungen vermuten dürfen. Auch dieser Reizstoff ist hitzebeständig, er wird aber durch gewisse Bakterien zerstört. Er entsteht offenbar nicht erst durch eine vorausgegangene Reizung der Blätter; denn man erhält ihn gleich dem Plasmaströmung auslösenden Reizstoff der Vallisnerienblätter bereits dann in maximalen Konzentrationen, wenn man frische Blätter sehr schnell mit kochendem Wasser abtötet.

Wie bei Vallisneria habe ich nun ferner die Frage verfolgt, durch welche chemischen Stoffe die Blätter der Mimose gereizt werden. Dabei zeigte sich, daß diese Pflanze, obwohl sie doch gegen Erschütterungs-, Verwundungs- und Lichtreize so hochgradig empfindlich ist, von der Mehrzahl der allerverschiedensten chemischen Verbindungen, die den Blättern gleich den Blattextrakten von den Schnittflächen her gelöst dargeboten wurden, gar nicht beeinflußt wird. Nur sehr wenige chemische Verbindungen machten davon eine Ausnahme und merkwürdigerweise noch dazu solche, die unter einander nicht die mindeste Verwandtschaft besitzen. Und zwar sind es vor allem einerseits wieder gewisse α-Aminosäuren, andererseits einige Anthrachinonderivate; ganz schwach wirken auch einige Fettsäuren. Unter den Aminosäuren waren am wirksamsten das Alanin, Serin und die Glutaminsäure, etwas weniger das Glykokoll, die Aminobuttersäure und die Asparaginsäure. Auch hier machen sich wieder

[1]) Fitting, H., Untersuchungen über endogene Chemonastie bei Mimosa pudica. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 72, 1930; S. 700ff.

große Unterschiede geltend zwischen nahe verwandten Säuren, wie etwa Glutaminsäure und Glutamin, ferner zwischen den optisch-aktiven Säuren und zwar zugunsten der natürlich vorkommenden, sowie zwischen den wirksamen Aminosäuren und den zugehörigen Aminen oder Amiden, die sämtlich sehr wenig wirksam sind. Noch etwas empfindlicher als gegen die genannten Aminosäuren sind die Mimosenblätter gegen einige Anthrachinonderivate, wie z. B. besonders gegen das Frangulaemodin. Aber weder solche, noch Aminosäuren kommen in den Blattextrakten als der eigentliche Reizstoff in Betracht; denn die unteren Schwellen aller dieser Verbindungen liegen noch immer viel höher als bei diesem; auch unterscheiden sich die Wirkungen der genannten chemischen Stoffe etwas von denen des Reizstoffes. Z. B. setzen die wirksamen Aminosäuren die Empfindlichkeit der Mimosenblätter sehr schnell soweit herab, daß sie selbst für Blattextrakte starr werden.

Durch diese Untersuchungen hat sich also noch gar kein Einblick in die chemische Natur des eigentlichen Reizstoffes gewinnen lassen. Aus ihnen geht nur so viel mit großer Sicherheit hervor, daß der Reizstoff nicht eine allgemein in Pflanzen verbreitete chemische Verbindung ist, und daß er zu einem ganz anderen Typus gehört als der vorher besprochene Reizstoff in der Vallisnerienpflanze. Es wird nun nichts anderes übrig bleiben als der Versuch, das Mimosenhormon möglichst von allen anderen Blattextraktstoffen abzutrennen. Seit Jahren bin ich mit dieser präparativen Arbeit beschäftigt, ohne indes das Ziel bisher erreicht zu haben.

2. Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes auf die Wegsamkeit des Protoplasmas für Lösungen[1]

Von Hans Fitting

Beim Stoffwechsel und bei vielen anderen wichtigen physiologischen Vorgängen spielen die Durchlässigkeitsverhältnisse des lebenden Protoplasmas in den Zellen für Nährstoffe und andere Verbindungen offenbar eine sehr bedeutsame Rolle. Wir haben Grund anzunehmen, daß die Wegsamkeit (Permeabilität) des Plasmas, womit sich in der Tier- und Pflanzenphysiologie schon sehr viele Forscher beschäftigt haben, nicht konstant bleibt, sondern daß sie durch mannigfache äußere und innere Ursachen veränderlich ist, ja daß der Organismus vielleicht sogar imstande ist, sie nach seinen Bedürfnissen selbsttätig, also regulatorisch zu verändern. Jedoch befindet sich bezüglich der letzteren Fragen die Forschung infolge sehr großer methodischer Schwierigkeiten, die sich solchen Versuchen entgegenstellen, noch ganz in ihren Anfängen. Auf Grund viel beachteter Arbeiten zweier Pflanzenphysiologen (aus den Jahren 1909 und 1910) galt in der Reiz- und Stoffwechselphysiologie der Pflanzen fast allgemein als gesicherte Tatsache, daß die Permeabilität des Plasmas z. B. durch Licht wesentlich beeinflußt (erhöht) wird. Trotz manchen, z. B. auch von mir gelegentlich geäußerten Zweifeln, ob die Versuche jener Forscher wirklich eindeutig seien, war eine dringend nötige Nachprüfung nicht erfolgt. Ich stellte daher Herbert Zycha[2]) die Aufgabe, den Einfluß des Lichtes auf die Plasmapermeabilität nochmals mit der gleichen Methode, die von jenen Forschern verwendet worden war, und zwar möglichst kritisch zu untersuchen. Die erste dringliche Aufgabe mußte in einer möglichst sorgfältigen Ermittlung der Fehlergrenzen der Methode bestehen. Eine solche war nämlich

---

[1]) Aus dem Botanischen Institut zu Bonn.

[2]) Zycha, H., Über den Einfluß des Lichtes auf die Permeabilität von Blattzellen für Salze. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 68, 1928; S. 499ff.

bei den früheren Forschungen leider unterlassen worden. Infolgedessen war damals ganz entgangen, daß die infolge Belichtung beobachteten Ausschläge bei der Mehrzahl der Versuche überhaupt innerhalb der Fehlergrenzen der Meßmethode liegen. Zycha gelang es daher bei seinen sehr genauen Versuchen an dem gleichen Versuchsobjekten, die seine Vorgänger benutzt hatten, nicht, mit Sicherheit regelmäßige und eindeutige Permeabilitätsänderungen infolge Belichtung der Blätter nachzuweisen. Gelegentlich kam sogar eine geringe Permeabilitätszunahme infolge von Verdunklung vor. Auf Grund aller unserer Erfahrungen und eingehender kritischer Überlegungen drängen sich daher folgende Schlüsse auf: 1. Permeabilitätsänderungen durch Belichtung mit Sicherheit nachzuweisen, ist die dazu angewendete (plasmolytische) Methode selbst mit allen möglichen Verbesserungen ungeeignet, weil solche Änderungen, falls überhaupt vorhanden, zu klein im Verhältnis zu den Fehlergrenzen dieser Methode sind. 2. Die bisherigen mit dieser Methode angestellten Versuche können also in keiner Weise eine Permeabilitätsänderung des Plasmas durch Belichtung beweisen.

3. Beiträge zur Stoffwechselphysiologie der Grünalgen[1])

Von Max Roberg

Während man früher allgemein angenommen hatte, daß für Meerestiere nur geformte Nahrung in Betracht komme, stellte Pütter in den Jahren 1907—1909 die Hypothese auf, ein Teil von ihnen lebe ganz oder teilweise auch von gelöster Nährsubstanz. Es war selbstverständlich, daß eine derartige Ansicht zu ausgedehnten Diskussionen und Kontroversen führen mußte; war sie doch als umwälzend für die zoologische Ernährungsphysiologie zu bezeichnen. Die organischen Verbindungen nun, die sich gelöst im Meerwasser befinden und den Tieren zur Nahrung dienen sollen, entstammen nach Pütter in der Hauptsache dem Stoffwechsel lebender Algen. Er sagt: „Im Stoffwechsel der Algen werden in großer Menge lösliche Kohlenstoffverbindungen gebildet und an das Meerwasser abgegeben."

Die oben erwähnte Theorie über die Ernährung der Wassertiere hat daher zur Voraussetzung, daß lebende Algenzellen einen Teil der bei der Assimilation gebildeten Substanzen in das Wasser absondern müssen, ein Vorgang, der vom ökologischen Standpunkt aus schwer verständlich ist, da die vonden Pflanzen im Stoffwechsel selbst gebildeten organischen Verbindungen nicht ausgenutzt oder gespeichert, sondern ausgeschieden und preisgegeben werden. Verf. wollte nun durch Experimente die Möglichkeit dieser letzteren Annahme einer näheren Untersuchung unterziehen; es sollte, um die Fragestellung noch einmal zu skizzieren, festgestellt werden, ob lebende Algen tatsächlich Assimilationsprodukte gelöst dem umgebenden Medium mitteilen[2]).

Als Untersuchungsobjekte dienten absolute Reinkulturen einzelliger Grünalgen: Chlorella vulgaris, Coccomyxa simplex, Scenedesmus bijugatus.

Der Versuchsgang war folgender: Eine anorganische Nährlösung wurde mit Algen beimpft, nach einer gewissen Kulturdauer — 4—10 Wochen — die gebildete Algenmasse durch ein

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) Roberg, M., Ein Beitrag zur Stoffwechselphysiologie der Grünalgen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 72, 1930, S. 369.

Porzellanfilter entfernt und das algenfreie Filtrat auf Kohlenstoffverbindungen geprüft. Hatten die Algen an das umgebende Medium organische Stoffe abgegeben, so mußten diese natürlich nachweisbar sein. Wie die Analysen ergaben, hatte sich nun tatsächlich das Wasser infolge des darin stattgefundenen Algenwachstums an löslichen Kohlenstoffverbindungen angereichert. Ihre Menge war abhängig von der Algenart und der Kulturdauer.

Es sei kurz auf die Bestimmung des Kohlenstoffs eingegangen, die nur mittels Mikromethoden durchgeführt werden konnte, da die zur Verfügung stehenden Mengen der organischen Materie sehr gering waren. Zur quantitativen Erfassung des organisch gebundenen Kohlenstoffs wurde derselbe in einem etwas abgeänderten Corleiskolben in Mikroausführung mittels Chromschwefelsäure nach Messinger verbrannt und in Natronkalkröhren zur Wägung gebracht. Später trat an die Stelle der gravimetrischen eine titrimetrische Methode. Die gebildete Kohlensäure wurde im kohlensäurefreien Raum in Barytlauge aufgefangen und der Überschuß an Lauge mit Salzsäure zurücktitriert.

In mehreren Versuchsreihen wurden den Pflanzen verschiedene rein anorganische Nährlösungen geboten. Das Ergebnis war stets dasselbe. Der Gehalt einer Algenkultur an organischen Substanzen, die sich gelöst im Außenmedium befinden, erfuhr mit der Versuchsdauer eine Vermehrung. So hatte sich z. B. in einem Versuch die Nährlösung nach 4 Wochen um 1,0 mg, nach 7 Wochen um 2,8 mg und nach 12 Wochen um 3,2 mg C angereichert. Versuche, die unbekannte gelöste organische Verbindung näher zu bestimmen, hatten infolge der geringen zur Verfügung stehenden Mengen keinen Erfolg. Pilze und Bakterien vermochten die Substanz jedoch als Kohlenstoffquelle zu verwerten. So konnte auch M. Schröder, wie an anderer Stelle dieses Berichtes erwähnt wird (S. 255) feststellen, daß die von Chlorella abgegebenen organischen Verbindungen für Azotobacter chroococcum eine C-Quelle darstellen. Die Frage nun, woher die unbekannten Stoffe stammen und wie sie in die Nährlösung gelangen, wurde vom Verf. in dem bereits oben erwähnten Sinne Pütters beantwortet: Diese Substanzen entstammen wahrscheinlich dem Stoffwechsel lebender Algen. Die Alge produziert mit Hilfe der Sonnenlichtes aus Kohlensäure organische Materie und gibt einen Teil dieser Assimilate durch Diffusion gelöst an das umgebende Medium ab.

Wenn somit diese Versuche eine Bestätigung der Ansicht Pütters über den Stoffwechsel der Algen darstellen, so ist natürlich über das eigentliche Hauptproblem, die Ernährung der Wassertiere durch gelöste Stoffe, nichts ausgesagt worden.

Gelegentlich der oben berichteten Versuche wurde beobachtet, daß geringe Gaben von Zinksulfat üppigeres Wachstum der Algen hervorriefen. Es ergab sich damit ohne weiteres die Frage, welchen Wert Zink für Chlorophyceen habe[1]). Ist es, wie bei Aspergilleen (siehe S. 262), als Nährstoff zu betrachten, d. h. ist ohne Zink ein normales Gedeihen unmöglich oder wirkt dieses Schwermetall als Stimulans und begünstigt nur ein schnelleres Wachstum. — Gleichzeitig wurde auch die Wirkung zweier anderer Schwermetalle, Eisen und Kupfer, untersucht. Von ersterem wissen wir, daß es für alle höheren grünen Pflanzen notwendig ist, da ohne seine Gegenwart die Ausbildung des zum autotrophen Leben benötigten Chlorophylls unterbleibt. Ob es aber auch für Algen bei heterotropher Ernährung im Dunkeln unentbehrlich ist, wurde bisher nicht geklärt. Kupfer, das für Aspergillus wohl ein Nährstoff ist, schien nach allen bisherigen Autoren auf Algen nur als Gift zu wirken und zwar sollten sich schon die geringsten Spuren wirksam erweisen. Von Zink kannte man je nach der Konzentration des Salzes eine stimulierende und giftige Wirkung auf gewisse Algen.

Die Nährlösungen mußten für diese Versuche nach besonderen Verfahren von den geringsten Spuren Eisen, Zink und Kupfer befreit werden, damit nicht unbeabsichtigt mit den Nährsalzen als Verunreinigung derselben geringe Spuren der Schwermetalle dem Medium mitgeteilt wurden. Die Metalle wurden den Algen bei autotropher, mixotropher und heterotropher Ernährung geboten, d. h. die Algen wuchsen sowohl in anorganischer wie organischer Nährlösung im Licht, wie auch in organischer Lösung im Dunkeln. Das Ergebnis war folgendes:

Eisen ist bei jeglicher Ernährungsweise als Nährstoff zu werten, in höheren Gaben wirkt es jedoch vergiftend;

Zink fördert in geringen Mengen das Wachstum, in größeren übt es dagegen einen schädigenden Einfluß aus.

Kupfer ist in sehr geringen Mengen als Stimulans zu betrachten, während es in größeren giftig wirkt. Die Förderung ist besonders stark bei heterotropher und mixotropher Ernährungsweise, während bei autotropher die Schädigung eher in Erscheinung tritt.

---

[1]) Roberg, M., Ein Beitrag zur Stoffwechselphysiologie der Grünalgen. II. Über die Wirkung von Eisen-, Zink- und Kupfersalzen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 76, 1932, S. 311.

4. Über die Stoffwanderung im pflanzlichen Organismus[1])

Von Walter Schumacher[2])

Während man in der Tierphysiologie die Erscheinung des Blutkreislaufes schon seit langer Zeit recht genau kennt, ist in der Botanik über einen pflanzlichen Säftestrom nur sehr wenig Sicheres bekannt. Man weiß nur, daß ein solcher vorhanden sein muß, daß etwa die Wurzeln eines Baumes ihre Kohlehydrate nur von den grünen Organen, den Blättern, beziehen können, oder daß die reifenden Früchte ihre Inhaltsbestandteile aus eben diesen Quellen zugeleitet erhalten müssen; die Leitungsbahnen aber, in denen die Zucker, Eiweiße usw. an die Stellen des Verbrauchs befördert werden, und die bewegenden Kräfte dieser Stoffwanderungen sind bis auf den heutigen Tag noch nicht geklärt worden. Die Gründe, warum ein solches Zentralproblem der gesamten Pflanzenphysiologie noch immer der Lösung harrt, sind dabei keineswegs in einem mangelnden Interesse zu suchen; sowohl die reine Botanik wie auch die angewandten Disziplinen, vor allem die Pflanzenpathologie, haben sich immer wieder, wenn auch häufig mehr spekulativ, mit diesen Fragen beschäftigt, da die Kenntnis der Leitungsbahnen auch hier für die Ausbreitung und Bekämpfung vieler Krankheiten von großer Wichtigkeit ist. Der experimentell eindringenden Forschung haben sich aber ungleich größere Schwierigkeiten als in der Tierphysiologie entgegengestellt, da die Pflanze ja nicht die innere Gliederung wie der Tierkörper besitzt, und die für die Stoffleitung in Frage kommenden Organe von so außerordentlicher Kleinheit und Empfindlichkeit sind, daß sie nur mit guten Mikroskopen überhaupt gesehen werden können.

Man hat auf Grund von Ringelungsexperimenten an Bäumen die Rinde als den Ort des Stofftransportes erklärt, ohne jedoch damit

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Bonn.

[2]) Schumacher, W., Untersuchungen über die Lokalisation der Stoffwanderung in den Leitbündeln höherer Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 73, 1930; S. 770.

Derselbe, Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeïns in den Siebröhren. Ebenda Bd. 77, 1933; S. 685.

andere logische Deutungsmöglichkeiten ausschließen zu können. Der exakte Beweis für diese Annahme ist erst in allerjüngster Zeit von englischer Seite erbracht worden. In den Rinden und ebenso in gewissen Bestandteilen der Leitbündel, den sog. Siebteilen, finden sich nun aber eigenartige, röhrenartige Elemente, deren Querwände von feinen Poren durchsetzt sind; und diese sog. Siebröhren haben schon frühzeitig die besondere Aufmerksamkeit der Botaniker erweckt, ohne daß es bisher geglückt wäre, experimentell an diese Gebilde heranzukommen. Ihnen galt im speziellen die Arbeit, über die hier kurz berichtet werden soll.

An den Blattstielen der allbekannten Pelargonien ließ sich nämlich ein solches Leitbündel trotz seines geringen Querschnittes von höchstens 1 qmm soweit isolieren, daß das Blatt nur noch durch diesen dünnen Strang mit der Mutterpflanze in Verbindung stand. Wenn man nun ein so operiertes Blatt längere Zeit verdunkelt, so konnte mit Hilfe der schon in den vorstehenden Arbeiten benutzten quantitativen Mikrotechnik eine starke Abwanderung der Stickstoffverbindungen durch dieses isolierte Leitbündel hindurch analytisch erfaßt werden. Nach vielen Mißerfolgen gelang es sogar, auch den wasserleitenden Gefäßstrang eines solchen Bündels hinwegzuoperieren, ohne die Stoffwanderung dadurch zu stören. Damit war der exakte und mit den gleichzeitigen englischen Ergebnissen an Rinden übereinstimmende Beweis geliefert, daß für einen Stofftransport in der Pflanze nur der Siebteil in Frage kommen konnte.

Hier versagte aber nun jedes weitere operative Vorgehen; denn es ist eine völlige Unmöglichkeit, aus dem Siebteil eines Leitbündels, nun etwa auch noch die relativ wenigen Siebröhren unverletzt herauszupräparieren. Sowohl in der Tier- wie in der Pflanzenphysiologie hat man sich nun schon seit langem zum Nachweis von irgendwelchen Strömungen mit Erfolg gewisser Farbstoffe bedient. Es lag daher nahe, auch zur Entscheidung der Frage, ob wirklich die Siebröhren die eigentlichen Leitorgane der Pflanzen darstellen, Farbstoffe einzuführen, und solche Versuche sind denn auch schon vor längerer Zeit wiederholt ausgeführt worden, bis jetzt aber mit völlig negativem Erfolg. Auch ich habe lange Zeit keinerlei Resultate erzielen können, bis ich endlich in dem bekannten Farbstoff Eosin einen Körper fand, der eine recht merkwürdige und streng spezifische Wirkung auf die Siebröhren vieler Pflanzen ausübt, wenn man ihn in geeigneter Weise in das Objekt einführt. Die Siebröhren riegeln sich nämlich

danach in ihren Siebplatten sehr rasch mit sog. Kalluspfropfen ab oder gehen völlig zu Grunde, ohne daß man an der Pflanze zunächst irgend welche sonstige Veränderungen bemerken könnte. Mit dem Augenblick aber, mit dem ein solcher Verschluß der Siebröhren erfolgt ist, ist auch die Stoffwanderung in der Pflanze stillgelegt, wie speziell für den Stickstoff analytisch gezeigt werden konnte.

Damit war endlich ein starker Hinweis auf die Rolle der Siebröhren in den höheren Pflanzen gewonnen. Die nächstliegende Erklärung war jetzt sicherlich die, daß die Siebröhren selbst die Leitorgane der Pflanze sind. Es war jedoch noch immer der Gedanke nicht von der Hand zu weisen, daß sie etwa nur eine Art von Nervenbahnen darstellen, die allerdings in engster Beziehung zur Stoffwanderung stehen mußten; und dieser Verdacht fand darin eine gewisse Stütze, daß es nicht gelingen wollte, das Eosin innerhalb der Siebröhren nachzuweisen. Ein solcher Nachweis mußte aber unbedingt gefordert werden, wenn nicht nur die Lokalisationsfrage restlos gelöst, sondern auch die Mechanik der Bewegung einer Erklärung näher gebracht werden sollte.

Nach längeren vergeblichen Versuchen gelang es schließlich, in einem chemischen Verwandten des Eosins, dem ganz ungiftigen Fluoresceïn, eine Substanz zu entdecken, die sich in mehrfacher Hinsicht als geradezu ideales Hilfsmittel zur Bearbeitung dieser Fragen erwies. Auch das Fluoresceïn ist im Inneren einer Pflanze, wenn man es etwa durch die Nerven eines Blattes einführt, mit dem üblichen mikroskopischen und mikrochemischen Hilfsmitteln nicht aufzufinden, so daß ich ursprünglich vermutete, daß es von der Pflanze überhaupt nicht aufgenommen würde. Daß dies jedoch, wie vielleicht auch bei manchem anderen Stoff, der heute noch als nicht permeierend gilt, sehr wohl der Fall ist, zeigte sich erst, als ich damit begann, die Untersuchung statt mit gewöhnlichem mittels des kurzwelligen ultravioletten Lichtes vorzunehmen. Diese Methode gestattet nämlich dadurch, daß hier überhaupt nur Objekte sichtbar werden, die das Vermögen besitzen, das für unser Auge unsichtbare ultraviolette Licht umzuwandeln, den scharfen Nachweis von ganz unvorstellbar kleinen Substanzmengen, ohne daß dabei in die lebenden Zellen direkt eingegriffen zu werden brauchte, was gerade bei den so überaus empfindlichen Siebröhren von ganz ausschlaggebender Bedeutung ist.

Und damit ließ sich nun folgendes beobachten: Wenn man auf die Nerven eines Blattes ein Tröpfchen Fluoresceïn-Gelatine setzt, so

beginnen schon nach ganz kurzer Zeit die Siebröhren in größerer Entfernung davon im ultravioletten Lichte plötzlich aufzuleuchten, eine leuchtende Welle wandert, polar von dem Gelatinetropfen ausgehend in den Siebröhren, und nur in den Siebröhren, den Blattstiel herab bis zum Stamm und breitet sich daselbst in ganz merkwürdiger und wahrscheinlich von der Pflanze willkürlich steuerbarer Weise weiter aus. Bald zieht der Strom in den Siebröhren unmittelbar hinauf bis zu den Vegetationspunkten und zeigt so überraschend eine unmittelbare Verbindung aller Blätter mit den Zentren des Wachstums, bald steigt er abwärts zu den Wurzeln, bald wird er auch gleichzeitig nach beiden Richtungen abgeleitet. Die Bewegung erfolgt mit einer für eine Pflanze erstaunlichen Schnelligkeit, die bis jetzt gemessene maximale Geschwindigkeit betrug über $^1/_2$ cm in der Minute, doch steht die Wanderungsgeschwindigkeit in starker Abhängigkeit von der Außentemperatur, deren Absinken die Ausbreitung deutlich verlangsamt. Der wandernde Farbstoff ist in der Zelle nur im lebenden Protoplasma zu beobachten, jede Schädigung der Zelle führt zu einem sofortigen Abstoßen und Erlöschen der Fluoreszenz, so daß angenommen werden muß, daß das Plasma und nicht etwa die Vakuole die eigentliche Wanderbahn für den Stofftransport darstellt.

Es kann nach diesen Ergebnissen keinem Zweifel mehr unterliegen, daß wir in den Siebröhren einer Pflanze die besonderen Leitorgane vor uns haben, in denen die gesuchten geheimnisvollen Stoffströme durch den pflanzlichen Organismus fließen, und daß uns die leuchtende Fluoreszeïnspur einen ersten Blick in dieses wundersame innere Getriebe erlaubt. Es ist aber heute noch ganz rätselhaft, welche Triebkräfte diese dauernden Ströme durch eine Pflanze treiben, da ja nirgends Pumpstationen nach Art des tierischen Herzens ausgebildet sind. Vielleicht aber bietet der Umstand, daß wir sie jetzt wenigstens sichtbar machen können, doch die Möglichkeit, nunmehr auch diese physiologische Grundfrage experimentell in Angriff zu nehmen.

II

Assimilation der Kohlensäure

1. Untersuchungen über die Kohlensäureassimilation[1]) der grünen Pflanzen

Von Richard Harder

Die gesamte organische Substanz auf der Erde ist mit Ausnahme äußerst geringer Mengen, die praktisch gleich Null gesetzt werden dürfen, auf die Tätigkeit der grünen Pflanzen zurückzuführen. Mit Hilfe ihrer Chloroplasten wandeln sie Kohlensäure der Luft in Kohlenhydrate um, ein Prozeß, der als Kohlensäureassimilation bezeichnet wird. Als Nebenprodukt der dabei stattfindenden Reduktion des Kohlendioxyds tritt Sauerstoff auf, der in die Atmosphäre entweicht. Die Kohlensäureassimilation ist daher in doppelter Hinsicht von fundamentaler Bedeutung für die gesamten Lebewesen der Erde; sie liefert einerseits die gesamte organische Nahrung, andererseits ist sie die einzige heute auf unserer Erde in Betracht kommende Quelle, die den für die Atmung von Tier und Pflanze notwendigen Sauerstoff produziert.

Es ist daher eine der wichtigsten Aufgaben der pflanzlichen Ernährungsphysiologie, über diesen grundlegenden Prozeß Klarheit zu schaffen. Über eine Anzahl derartiger Untersuchungen, die mit Hilfe der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft im Botanischen Institut der Technischen Hochschule in Stuttgart begonnen wurden und jetzt in Göttingen weitergeführt werden, sei nachstehend berichtet.

A. Einheimische Pflanzenwelt

a) Assimilation bei Konstanz der Außenfaktoren

Neben der Erforschung der chemischen Abwicklung der Reaktionenkette bei der Kohlensäureassimilation gilt es, die Abhängigkeit des Prozesses von den Außenfaktoren zu klären. Da ein Teil der für die Kohlensäureassimilation wichtigen Faktoren, besonders das Licht und die Temperatur, unter natürlichen Bedingungen dauernden Ver-

[1]) Aus den Botanischen Instituten der Technischen Hochschule zu Stuttgart und der Universität zu Göttingen.

änderungen ausgesetzt sind, so sind neben der Untersuchung am natürlichen Standort Forschungen im Laboratorium unter konstanten Verhältnissen unerläßlich.

In der Literatur ist bereits eine sehr große Zahl von Forschungsergebnissen über dieses Gebiet niedergelegt; fast stets handelt es sich dabei aber um Versuchsanstellungen, bei denen man alle Faktoren, die von Bedeutung für die Kohlensäureassimilation sind, konstant hielt bis auf einen einzigen Faktor, der variiert wurde; dadurch ließ sich die Wirkung dieses Faktors auf die Assimilation erkennen. Man ging dabei stillschweigend von der Voraussetzung aus, daß die Assimilationsintensität während der ganzen Dauer des Versuches ohne die Variation dieses eines Faktors konstant geblieben wäre — eine Annahme, deren Richtigkeit jedoch zunächst noch der experimentellen Prüfung bedurfte.

Zur Feststellung der Verhältnisse wurden im Laboratorium Versuche mit dem Wassermoos Fontinalis angestellt[1]). Wenn auch die untergetaucht lebenden Wasserpflanzen nur einen winzigen Bruchteil gegenüber der Landflora darstellen, so sind sie doch für die Assimilationsuntersuchungen besonders geeignet, weil ihnen die Spaltöffnungen fehlen, die bei allen Landpflanzen den Ein- und Austritt der Stoffwechselgase in das Laubblatt vermitteln. Diese Spaltöffnungen können von der Pflanze selbsttätig geöffnet und geschlossen werden, wodurch der Durchtritt der Gase gefördert oder gehindert wird. Für den Experimentator stellt diese Regulation seitens der Pflanze einen komplizierenden Faktor dar, so daß Wasserpflanzen ohne Spaltöffnungen, bei denen die Diffusion der im Wasser gelösten Gase durch die ganze Blattoberfläche erfolgt, für manche Versuche vorzuziehen sind.

Die Versuchspflänzchen wurden in besonders für diesen Zweck konstruierte, kleine, mit Wasser gefüllte Kölbchen eingeschlossen und ihr Gaswechsel mit Hilfe einer chemischen Mikrotitrationseinrichtung festgestellt. Bei der geringen Menge des erforderlichen Versuchsmaterials und der Kleinheit aller Apparaturteile war es möglich, alle Versuche mit mehrfacher Kontrolle auszuführen, wodurch die Resultate sehr an Zuverlässigkeit gewinnen. Die Kölbchen lagen in einem großen Wasserbade bei völlig konstanter Temperatur und wurden mit einer starken elektrischen Lampe (2000 Watt) beleuchtet. Der

[1]) R. Harder, Über die Assimilation der Kohlensäure bei konstanten Außenbedingungen. I. Planta, 1930, Bd. 11, S. 263—293.

elektrische Strom, der die Lampe speiste, wurde durch besondere Vorkehrungen vollkommen schwankungsfrei gehalten.

Nach der bisherigen Meinung, von der nur ganz wenige, fast unbeachtet gebliebene Veröffentlichungen abweichen, hätte unter diesen Verhältnissen die Assimilationsintensität konstant sein müssen. Tatsächlich wies sie aber im Verlaufe des viele Stunden dauernden Versuches sehr erhebliche Änderungen auf.

Das Auffälligste war, daß die Assimilationsintensität am Beginn der Versuche relativ träge war, unter der Wirkung des Lichtes aber eine anfangs sehr starke, später zunehmend schwächer werdende Verstärkung erfuhr. Die Pflanzen, die vor dem Versuch viele Stunden dunkel gehalten worden waren, ergaben bei Einschalten des Lichtes einen bestimmten Assimilationswert. In einem Falle war er 31,9, 42 Minuten später war er auf 49,1 gestiegen, nach weiteren 42 Minuten betrug er 51,6 und stieg dann im Laufe von 8 Stunden noch bis 54,8 an. Während man nach den bisherigen Vorstellungen den Assimilationsapparat der Pflanzen mit einer Maschine vergleichen konnte, die vom Augenblick des Einschaltens an mit voller Tourenzahl läuft, müssen wir sie nun einer Maschinerie gleichsetzen, die erst ganz allmählich im Laufe von Stunden zu ihrer Höchstleistung gelangt.

Ist die Höchstleistung erreicht, so bleibt diese nun aber nicht während langer Zeit erhalten, sondern es tritt alsbald ein Abfall der Leistungskurve ein. So hatte in einem bestimmten Versuch die Assimilationsintensität nach $5^1/_2$ Stunden ihr Maximum erklommen und sank dann ganz allmählich wieder ab, so daß nach weiteren 20 Stunden der Anfangswert wieder erreicht war. Es kam aber auch vor, daß der Abfall rascher oder auch noch langsamer vor sich ging. Es tritt also nach einer gewissen Zeit eine Art Ermüdung ein. Wenn man solchen ermüdeten Pflanzen nun eine stundenlange Dunkelpause gönnt, so erholen sie sich wieder und sind bei erneutem Einsetzen einer Dauerbelichtung wieder zu neuer Leistungssteigerung befähigt. Ja, es ist sogar möglich, die Ermüdungserscheinungen schon durch sehr kurze Dunkelpausen zu beseitigen. Bei Pflanzen, deren assimilatorische Leistung infolge vielstündiger Dauerbeleuchtung bis unter den Anfangswert gesunken ist, genügen schon Dunkelpausen von wenigen Minuten in $^1/_2$ stündigem Abstand, um der Ermüdung Herr zu werden und die Assimilationsintensität wieder zu steigern.

Nach diesen Feststellungen erscheinen die Verhältnisse relativ einfach: Durch Belichtung bisher verdunkelt gewesener Pflanzen

wird die Assimilation „aktiviert“, über viele Stunden ausgedehnte Belichtung ruft dann Abflauungserscheinungen hervor, die durch Dunkelpausen wieder aufgehoben werden können.

Tatsächlich ist der Vorgang aber wesentlich komplizierter. Denn die Einfügung der Dunkelpausen vermag nur bei bereits sehr stark ermüdeten Pflanzen zu einer Hebung der assimilatorischen Tätigkeit zu führen, bei solchen Pflanzen hingegen, die gerade ihre Höchstleistung infolge der Aktivierung erreicht haben, läßt sich der Abfall der Assimilationstätigkeit durch Einschaltung von kurzen Dunkelpausen nicht verhindern. Zwar tritt eine gewisse Bremsung des Abfalls ein, ganz aufhalten läßt er sich aber nicht. Wir müssen daher annehmen, daß gegen die „Aktivierung“ eine „Gegenreaktion“ einsetzt, die allmählich gegenüber der Aktivierung ins Übergewicht kommt und zum Absinken der Leistungskurve führt. Diese „Gegenreaktion“ ist durch Dunkelpausen so gut wie nicht beeinflußbar; sie klingt aber nach einiger Zeit, wenn die Assimilation einen gewissen Tiefstand durch sie erreicht hat, ab, während gleichzeitig ein zweiter, die Leistung ebenfalls herabsetzender Prozeß zur Wirkung gekommen ist, nämlich die eigentliche „Ermüdung“, die nun durch Dunkelpausen günstig beeinflußt werden kann.

Der dargelegte Verlauf der Assimilationskurven gilt nun aber durchaus nicht für alle Fälle, sondern ist nur unter ganz bestimmten Bedingungen verwirklicht, nämlich dann, wenn die Pflanzen in einer Lichtintensität zur Assimilation gebracht werden, die schwächer, gleichstark oder bis zu einer gewissen unteren Grenze stärker ist als die Intensität des Lichtes, in dem die Pflanzen aufgezogen worden sind oder in dem sie sich doch wenigstens während längerer Zeit vor dem Versuch befunden haben. Verwendet man dagegen in schwachem Licht herangewachsene „Schattenpflanzen“ und exponiert sie einem sehr starken Versuchslicht, so erhält man Kurven, die nur sehr wenig und nur während sehr kurzer Zeit oder sogar überhaupt nicht ansteigen, dann aber tief absinken[1]). Dieser Abfall kann nun wieder verschiedenartig sein: entweder er geht ununterbrochen fort, oder er weicht nach einiger Zeit einem vorübergehenden Aufschwung, der seinerseits wieder mehr oder weniger ausgeprägt sein kann. So

[1]) R. Harder, Über die Assimilation der Kohlensäure bei konstanten Außenbedingungen. II. Das Verhalten von Sonnen- und Schattenpflanzen. Planta, 1933, Bd. 20, S. 699—733.

kommen Kurven zustande, wie auch Arnold sie schon gefunden hat: durch Leistungssenkung entsteht eine mehr oder weniger ausgesprochene Einbeulung, wie es durch die Kurven mit den niederen Nummern in Figur 1 veranschaulicht ist. Die Leistungssenkung ist nun um so intensiver und das zweite Maximum um so weniger ausgeprägt, je stärker das Versuchslicht im Verhältnis zur Intensität desjenigen Lichtes ist, an das die Pflanzen durch die Anzucht adaptiert sind. Ist die Intensität des Versuchslichtes dagegen relativ schwach im Verhältnis zum Anzuchtlicht, so ist die Leistungssenkung gering, oder sie fehlt gänzlich; die Assimilationskurven zeigen daher dann den Verlauf der höheren Nummern der Figur 1.

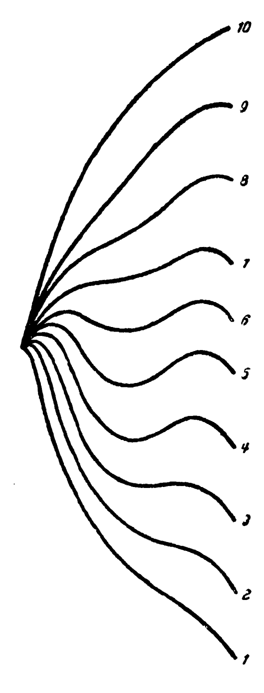


Abb. 1. Schematische Darstellung der verschiedenen Möglichkeiten von Assimilationskurven bei Konstanz der Außenbedingungen. Je stärker das Versuchslicht im Verhältnis zu demjenigen Licht ist, an das die Pflanzen adaptiert sind, einer desto niedrigeren Nummer gehören die Kurven an.

Maßgeblich für den Assimilationsverlauf ist also die Spanne, die zwischen der Intensität des Lichtes im Assimilationsversuch und der Stärke des Aufzuchtlichtes besteht. Um dieses Abhängigkeitsverhältnis zu beweisen, wurden die Versuchspflanzen in konstantem elektrischen Licht von verschiedenen Intensitäten herangezogen, die zwischen den relativen Werten 1 und 256 abgestuft waren. Wurden solche Pflanzen in verschieden starkes Assimilationslicht gebracht, so ergab sich stets die der Größe der Spanne zwischen den beiden Lichtintensitäten entsprechende Kurve.

Die eingangs besprochenen eingipfligen Kurven sind also nicht etwa spezifisch für „Sonnen-" und „Starklichtpflanzen" und die Sattelkurven spezifisch für „Schatten"- und „Schwachlichtpflanzen", sondern an jedem Pflanzenmaterial läßt sich jede Form der Assimilationskurven erzeugen.

Dabei hat sich gezeigt, daß der jeweilige Adaptationscharakter des Assimilationsapparates sehr labil ist. Durch Behandlung mit stärkerem oder schwächerem Licht ließ sich in verhältnismäßig kurzer Zeit eine „Umstimmung" bei den Pflanzen hervorrufen, so daß ursprüngliche Schwachlichtpflanzen nun wie Starklichtpflanzen und umgekehrt als Starklichtexemplare aufgezogene Individuen nun wie Schwachlichtpflanzen reagierten. Die Änderung in der Reaktionsweise konnte von Tag zu Tag verfolgt werden; unter Umständen ließ sich sogar schon durch eine einmalige wenigstündige Lichteinwirkung der Charakter der Assimilationskurven grundlegend verändern.

Es kann kein Zweifel bestehen, daß an diesen Vorgängen nicht nur die einzelnen Teilvorgänge der eigentlichen Photosynthese beteiligt sind, sondern daß auch innere, im Plasma der lebenden Zelle fußende Vorgänge dabei eine sehr wesentliche Rolle spielen müssen.

Die Assimilation der Kohlensäure ist also ein Prozeß, bei dem ein ganzer Komplex von Reaktionen in ungeahnter und sehr verwickelter Weise ineinandergreift. Über das Wesen der einzelnen Teilreaktionen vermögen wir noch nichts Näheres auszusagen, darüber können erst weitere Untersuchungen Klärung schaffen.

b) Tagesgang der Assimilation unter natürlichen Verhältnissen

Wie die Untersuchung der Assimilation unter konstanten Außenbedingungen, brachte auch das Studium des Tagesverlaufs der Assimilation der Laubblätter unter natürlichen Verhältnissen Überraschungen und ließ noch mancherlei Fragen offen.

Aus Laboratorienversuchen wissen wir, daß die Kohlensäureassimilation von einer Anzahl von Außenfaktoren abhängig ist, von denen die Lichtintensität, die Temperatur und die Kohlensäurekonzentration die wichtigsten sind. Dabei wird die Assimilationsintensität nach den Untersuchungen von Blackman, Harder u. a. am stärksten beeinflußt durch denjenigen Faktor, der sich am meisten im Minimum befindet. Sind beispielsweise Lichtintensität und Temperatur hoch, die Kohlensäurekonzentration aber niedrig, so wird eine Erhöhung der Kohlensäurekonzentration eine verhältnismäßig sehr viel stärkere Vermehrung der Assimilationsgeschwindigkeit hervorrufen als eine Steigerung des Lichtes oder der Temperatur, die als „überschüssige" Faktoren nur eine geringe oder sogar gar keine

Verstärkung der assimilatorischen Leistung auszulösen vermögen. Erst wenn die Kohlensäurekonzentration um so viel erhöht worden ist, daß dadurch die anderen Faktoren ins Minimum gedrängt worden sind, vermag deren Veränderung starke Ausschläge in der Assimilationsintensität hervorzurufen, während die Steigerung der Kohlensäurekonzentration nun verhältnismäßig unwirksam bleibt.

Mit diesen für die theoretische Seite des Assimilationsvorganges bedeutsamen Feststellungen hatte man sich bisher begnügt, die Beantwortung der wichtigen Frage nach der Leistung des Laubblattes im Laufe eines Tages unter natürlichen Verhältnissen steckte dagegen noch ganz in den Anfangsstadien. Abgesehen davon, daß man keine Dauerbeobachtungen machte, hatte man vor allem bei den Gaswechselversuchen immer die Versuchsblätter von der Mutterpflanze abgetrennt und für sich untersucht und somit unnatürliche Verhältnisse geschaffen. Eine Ausnahme in beiderlei Hinsicht machen nur Versuche von McLean und Kostytschew, die aber wieder daran kranken, daß die Beobachtung der Außenfaktoren während der Versuchszeit so unvollkommen ist, daß sich nichts Genaueres darüber aussagen läßt, wodurch nun eigentlich der Tagesgang der Assimilation geregelt wird.

Es hat deshalb Fräulein Dr. Schober[1]) im botanischen Garten in Stuttgart eine große Zahl von Versuchen ausgeführt, bei denen der Tagesverlauf der Assimilation an den nicht von der Pflanze losgelösten Blättern im Freiland bestimmt wurde bei gleichzeitiger exakter Messung der Lichtintensität, der Temperatur und der Kohlensäurekonzentration der Luft; auch die Spaltöffnungsweite wurde mit beobachtet. Die Untersuchungen wurden durchgeführt an einer Anzahl krautiger und holziger Freilandpflanzen wie Kartoffel, Kapuzinerkresse, Wegerich, Pappel, schwarze Johannisbeere, wilder Wein u. a.

Die Versuche wurden so ausgeführt, daß über das Versuchsblatt eine passende Glaskammer geschoben wurde, durch die ein dauernder Luftstrom gesogen wurde; durch chemische Analyse des Kohlensäuregehaltes der Luft vor und nach Passieren der Kammer wurde die Assimilation bestimmt.

---

[1]) Annemarie Schober, Über die Beziehung des Tagesganges der Kohlensäureassimilation von Freilandpflanzen zu den Außenfaktoren. Jahrb. f. wiss. Bot., 1932 Bd. 76, S. 441—484.

Der Tagesgang der Assimilation war ein außerordentlich mannigfaltiger. Bei der graphischen Darstellung glich keine Kurve der andern, sondern jeden Tag ergab sich wieder ein neues Bild: teils lag das Maximum der Assimilation in den Morgenstunden, teils am Nachmittag, teils gipfelte die Assimilation in den Mittagstunden. Zuweilen zeigte die Assimilation während des ganzen Tages zu allen Stunden ungefähr gleiche Stärke, in anderen Fällen wieder war ein äußerst unruhiges Steigen und Fallen der Assimilationsintensität vorhanden. Von einer „Normalkurve", die in der Mehrzahl der Fälle verwirklicht gewesen wäre, konnte keine Rede sein, sondern die assimilatorische Tätigkeit war eine ganz außerordentlich unregelmäßige. Ja, in einigen Fällen fand sogar trotz anscheinend günstiger Konstellation der Außenfaktoren überhaupt keine Kohlensäureaufnahme statt, sondern die Blätter gaben Kohlensäure ab, die Dissimilation war also stärker als die Assimilation.

Infolge der sorgfältigen Registrierung der Außenfaktoren ließ sich der scheinbar völlig regellose Verlauf der Tageskurven jedoch zu einem guten Teil in ursächliche Beziehung zu den Umweltsfaktoren setzen und damit erklären.

An lichtschwachen Tagen, wie sie der Frühling und der Herbst oft bringt, zeigte die Assimilation im allgemeinen eine starke Abhängigkeit von der Lichtintensität. Das Licht befand sich dann gegenüber der Temperatur und der Kohlensäurekonzentration im Minimum, es war der „begrenzende" Faktor. An solchen Tagen stieg die Assimilation im Laufe des Vormittags mit zunehmender Lichtintensität an, erreichte normalerweise mittags ihren Höhepunkt und fiel nachmittags wieder ab. Traten aber durch Wolken Lichtschwächungen ein, so sank die Assimilationsintensität sofort ab, um mit Wiedereintritt des Sonnenscheins wieder zu steigen. Genau so abhängig vom Licht war der Assimilationsverlauf aber auch im Hochsommer an sehr trüben Regentagen; sobald die Wolken etwas lichter wurden, verstärkte sich die Assimilation, um beim Aufziehen dicker Wolken dann wieder tief zu sinken.

Ist im Sommer das Wetter dagegen hell, so zeigt die Assimilationsintensität in der Regel keine Beziehungen zum Licht. Zwar findet auch an solchen Tagen zunächst am frühen Morgen ein Anstieg der Assimilation mit dem zunehmenden Tageslicht statt, bald kommt er aber zum Stillstand, während die Lichtintensität noch stark zunimmt. Die Ursache dafür liegt in der zu niedrigen Kohlensäurekonzentration

der Atmosphäre. Während für schwaches Licht Kohlensäure im Überschuß vorhanden ist, und das Licht dann begrenzend wirkt, gerät bei starkem Licht die Kohlensäure ins Minimum und wirkt nun ihrerseits begrenzend. Die ganzen riesigen Lichtintensitäten, die an Sommertagen während der Mittagszeit auf die Pflanzen treffen, können daher überhaupt nicht für die Assimilation voll ausgenützt werden, weil der in der Atmosphäre vorhandene Kohlensäuregehalt zu gering ist, um noch eine Steigerung der Assimilationsleistung über die Werte hinaus zu ermöglichen, die schon stundenlang vor dem höchsten Sonnenstand erreicht waren. Jede kleine, nur wenige Prozent betragende Erhöhung in der Kohlensäurekonzentration (wie sie z. B. durch Schornsteingase, die der Wind herbeiweht, oder auch durch die Tätigkeit der Vegetation selbst verursacht sein kann) löst sofort eine Vermehrung der assimilatorischen Tätigkeit aus, jeder Rückgang führt zu einer Verminderung, während gleichzeitig stattfindende Veränderungen der Lichtintensität bis zu mehreren 100% so gut wie wirkungslos bleiben. In einem bestimmten Versuch z. B., der im Juli mit der schwarzen Johannisbeere gemacht wurde, war um 9^{43} Uhr eine bestimmte Menge Kohlensäure im Liter Luft enthalten, die wir = 100 setzen wollen. Die dabei gemessene Assimilationsgröße setzen wir ebenfalls = 100. Im Laufe der nächsten Stunden schwankte der Kohlensäuregehalt dann um wenige Prozent, und alle Schwankungen wurden, wie Tab. 1 zeigt, von der Assimilation getreulich mitgemacht.

Tabelle 1

Uhr	Kohlensäuregehalt der Luft	Assimilation
9^{43}	100	100
10^{23}	98	93
11^{20}	103	120
12^{47}	102	113
13^{35}	103	117

Solche kohlensäurebegrenzten Tage gibt es im Laufe der Vegetationszeit viel mehr als lichtbegrenzte, da an klaren Tagen im Frühjahr und im Herbst und selbst an mäßig trüben Hochsommertagen das Licht immer noch im Überschuß vorhanden ist.

Für die Praxis der Kohlensäuredüngung ergibt sich aus diesen Beobachtungen, daß eine Begasung mit Kohlensäure an trüben

Tagen keinen Zweck haben kann, da dann das Licht den Gang der Assimilation reguliert und die Vermehrung des Kohlensäuregehaltes wirkungslos bleiben muß. Die Richtigkeit dieser Schlußfolgerung ist dann auch von Harder, Keppler & Reuß (siehe unten) experimentell gezeigt worden.

Nun wird aber auch an sonnigen Tagen eine Erhöhung der Kohlensäurekonzentration nicht in allen Fällen zu einem entsprechenden Erfolg führen, weil noch ein dritter Faktor mit eingreift, nämlich die Temperatur. Bei sehr hohen Temperaturen, die nicht selten mit besonders starker Intensität des Sonnenlichtes zusammenfallen, wird die assimilatorische Leistung geschwächt, so daß dann auch eine Kohlensäuredüngung keine Steigerung der Assimilation bewirken kann. Dieser negative Einfluß der Temperatur kann unter Umständen so stark sein, daß die Pflanzen überhaupt nicht assimilieren, sondern während der heißesten Tageszeit direkt Kohlensäure ausscheiden. Allerdings tritt das in unserem Klima nur sehr selten ein und wurde von Fräulein Dr. Schober unter ungefähr 100 Versuchstagen nur einmal festgestellt. In heißen, trockenen Gegenden ist diese Erscheinung dagegen viel häufiger, wie inzwischen Schanderl, Kostytschew sowie Harder, Filzer & Lorenz gezeigt haben.

Nun ist aber der Tagesgang der Assimilation nur in relativ seltenen Fällen so eindeutig durch einen einzigen Faktor begrenzt. Im allgemeinen greifen die Faktoren wechselweise ineinander. In den Morgen- und Abendstunden wird meistens die Kohlensäure im Überschuß vorhanden sein und das Licht oder die niedrige Temperatur begrenzend wirken, später werden dann an klaren Tagen diese beiden Faktoren in Überschuß geraten, und die Kohlensäure wird begrenzend werden. Treten dann Wolken auf, so wird wieder die Wirkung der Kohlensäure zur Geltung kommen, so daß ein dauerndes Wechselspiel stattfindet. Gerade dadurch werden die assimilatorischen Leistungen ein und desselben Blattes an aufeinanderfolgenden Tagen sich niemals gleichen, sondern es werden gemäß dem Wechsel der Außenfaktoren immer neue Varianten auftreten.

Nun genügt dieses Wechselspiel der Außenfaktoren aber tatsächlich noch nicht, um alle gefundenen Tageskurven zu erklären. Sondern es wurden viele Kurven ermittelt, die mit Hilfe von Lichtintensität, Kohlensäurekonzentration und Temperatur allein nicht deutbar sind. Die Assimilation ging vielmehr ihre eigenen Wege. Es müssen also auch noch innere Faktoren am Assimilationsgang mit beteiligt sein.

Sie näher zu charakterisieren, ist einstweilen nur schwer möglich. Teilweise werden die oben geschilderten Faktoren, die die Aktivierung, Gegenreaktion und Ermüdung hervorrufen mit im Spiele sein, teilweise können Anhäufungen von Assimilationsprodukten und ähnliches einen Einfluß auf die Tätigkeit der Chloroplasten ausgeübt haben, schließlich müssen aber noch weitere, einstweilen gänzlich unbekannte, wohl plasmatische Faktoren wirksam sein. Anders ist es nicht denkbar, daß Resultate, wie das folgende zustandekommen können: bei einem Versuch mit der Johannisbeere herrschte an einem hochsommerlichen Gewittertage um 14^{19} Uhr, um 15^{50} Uhr und um 16^{38} Uhr genau die gleiche Lichtintensität und Kohlensäurekonzentration, die Assimilation war dabei aber um 16^{38} Uhr um mehr als 100 % höher als um 14^{19} Uhr, und in der Zwischenzeit, um 15^{50} Uhr, fand überhaupt keine Kohlensäureaufnahme statt, sondern es wurde Kohlensäure ausgeschieden Das sind Unregelmäßigkeiten, die sich vorläufig noch jedem Versuch einer Deutung entziehen. Allerdings traten sie bei den Versuchen Fräulein Schoders nur sehr selten auf, Kostytschew hat sie dagegen öfter beobachtet, so daß an ihrer Existenz nicht gezweifelt werden kann. Aufgabe der Zukunft wird es sein müssen, diesen rätselhaften Erscheinungen auf den Grund zu kommen.

Alle hier besprochenen Ergebnisse beziehen sich nur auf Sonnenblätter. Daß Schattenblätter sich unter den gleichen Bedingungen ebenso verhalten, ist damit noch nicht gesagt; im Gegenteil, nach allem, was in der Literatur über die Physiologie der Schattenblätter bisher niedergelegt ist, ist zu erwarten, daß ihre Tageskurven ein ganz anderes Bild geben werden.

c) Assimilation bei Kohlensäuredüngung

Während die Schoderschen Versuche alle unter natürlichen Verhältnissen gemacht wurden, haben Harder, Keppler & Reuß[1]) die Assimilation unter der Wirkung von Kohlensäurebegasung untersucht.

Daß eine Erhöhung der Kohlensäurekonzentration die Assimilation bis zu gewissem Grade zu steigern vermag, geht bereits aus den oben

[1]) R. Harder, E. Keppler und H. Reuß, Beobachtungen über das Pflanzenwachstum und die Kohlensäureassimilation bei Kohlensäuredüngung und nächtlicher Zusatzbeleuchtung. „Die Gartenbauwissenschaft“, 1931, Bd. 5, S. 389—428.

mitgeteilten Schoderschen Versuchen hervor und ist auch bereits von zahlreichen andern Untersuchern festgestellt worden. Bei den in der Literatur vorliegenden Untersuchungen über diesen Gegenstand wurde aber stets mit abgeschnittenen Blättern und Augenblickswerten gearbeitet; wie dagegen das Blatt im normalen Verband mit seiner Tragpflanze und in Dauerversuchen auf die Kohlensäuredüngung reagiert, das bedurfte noch durchaus der Untersuchung. Wie notwendig es war, solche Experimente anzustellen, geht ohne weiteres aus den Ergebnissen unserer Versuche hervor, die in manchen Punkten von dem abweichen, was man auf Grund der bisherigen Laboratoriumserfahrungen erwarten mußte.

Das Studium der Assimilationsverhältnisse bei künstlicher Begasung mit Kohlensäure ist abgesehen von der theoretischen Bedeutung auch von großem Interesse für die Praxis. Seit Jahren ist die Gärtnerei bemüht, durch Kohlensäuredüngung ihre Gewächshauserträgnisse zu erhöhen und hat dabei auch durchaus Erfolg erzielt. Da aber nicht alle Pflanzenarten gleich reagieren, so muß für die einzelne Art ausprobiert werden, in welcher Dosierung ihr die Kohlensäure zugeführt werden muß. Das machte man bisher meist in der Weise, daß man begaste und dann den Erfolg bei der Ernte abwartete. Man muß also Wochen bis Monate warten, bis man ein Ergebnis zu sehen bekommt. Da nun die ganze Wirkung der Kohlensäuredüngung auf einer Förderung der Assimilation beruht, so muß man viel rascher zu einem Einblick kommen, wenn man direkt bei der Begasung die Assimilation untersucht. Aus dem Tagesverlauf der Assimilation wird man wichtige Schlüsse über die Reaktion der Pflanzen auf die einzelnen Kohlensäuregaben ziehen können und wird schon nach wenigen Versuchstagen zweckmäßig erscheinende Änderungen einführen können. Ferner wird man feststellen können, wie die Pflanzen während ihrer einzelnen Entwicklungsphasen, nach voraufgegangener stärkerer oder schwächerer Assimilation, bei verschiedenem Wetter und auf ähnliche kurzdauernde Veränderungen reagieren — Dinge, in die der nur das Endresultat zeigende Vegetationsversuch überhaupt keine Einblicke erlaubt.

Die Versuche wurden in der Hauptsache mit den gleichen Pflanzenarten wie die schon besprochenen durchgeführt, jedoch kamen noch Birke, Bohne, die Zierpflanze Plectranthus und einige andere hinzu. Da die Erhöhung des Kohlensäuregehaltes der Luft im Freiland auf erhebliche Schwierigkeiten stößt, wurde die Kohlensäuredüngung ent-

weder im Gewächshaus vorgenommen, oder die im Freiland stehenden Pflanzen wurden mit einem großen transportabeln Glashaus überbaut. Da letzteres relativ umständlich ist, so wurde die Mehrzahl der Versuchspflanzen in Töpfen gezogen. Die Kohlensäure selbst wurde durch Verbrennen der Reinauschen OCO-Dunggaskohlen erzeugt.

Wurden die Pflanzen begast, so trat mit der Zunahme der Kohlensäureassimilation auch eine starke Erhöhung der Assimilationsintensität ein. Bei einem Versuch mit Bohnen z. B., der so angestellt wurde, daß das eine Versuchsblatt normale Luft, ein anderes aber eine auf das Dreifache erhöhte Kohlensäurekonzentration erhielt, verhielt sich die von 8—15 Uhr erzielte Ausbeute pro Quadratzentimeter des unbegasten zum begasten Blatt wie 100:340. Wurde die Begasung, wie in diesem Fall, in mäßigen Grenzen gehalten, so blieb die Assimilationssteigerung während des ganzen Tages bestehen, wurden aber sehr hohe Konzentrationen gegeben, so fand nur anfangs eine starke Steigerung der Assimilation statt; schon etwa eine Stunde nach dem Beginn der Kohlensäuredüngung fiel die Assimilationsgeschwindigkeit dann wieder ab und war nach ein bis zwei weiteren Stunden wieder bis zum Ausgangswert gesunken. Man konnte die Begasung dann während des ganzen Tages fortsetzen, ohne daß die Assimilation wieder einen Aufschwung genommen hätte. Es ist also für die Praxis völlig zwecklos, während des ganzen Tages mit hohen Konzentrationen zu begasen, eine dauernde mäßige oder eine einmalige starke Zufuhr von Kohlensäure sind vollkommen ausreichend. Dazu bedarf es allerdings noch der genaueren Untersuchung, welcher dieser beiden Wege den besseren Gesamteffekt hervorruft. Soweit unsere Versuche schon ein Urteil zulassen, dürfte je nach der Pflanzenart, dem Entwicklungszustand, der herrschenden Lichtintensität und weiteren Bedingungen teils die eine, teils die andere Methode den besseren Erfolg bringen.

Das sind Ergebnisse, die nach dem Stande unserer Kenntnisse nicht sonderlich überraschen, ganz unerwartet war dagegen das Verhalten geschwächter Pflanzen bei der Begasung. Die Schwächung war dadurch zustande gekommen, daß die Topfexemplare nicht rechtzeitig umgetopft worden waren, sondern sich seit vielen Monaten im gleichen Topf befanden. Als derartige Exemplare der Kapuzinerkresse begast wurden, stellte sich heraus, daß sie überhaupt nicht auf die Erhöhung der Kohlensäure reagierten, sondern sie assimili-

sierten mit der gleichen Intensität weiter wie vor und nach der Begasung in der normalen Atmosphäre. Bedeutend auffälliger war die Reaktion bei geschwächten Plektranthuspflanzen, bei denen als Folge der Kohlensäuredüngung starke Unregelmäßigkeiten in der Assimilationsgeschwindigkeit auftraten: zeitweise war die Kohlensäurezersetzung höher als in gewöhnlicher Luft, in der nächsten halben Stunde sank sie aber dann sehr stark ab, und zwar bis zu schwacher Ausscheidung von Kohlensäure, die allerdings bald wieder verschwand; das wiederholte sich mehrmals am Tage, so daß als Endergebnis keinerlei Förderung der Tagesleistung der Assimilation resultierte.

Viel extremer war die ungünstige Reaktion bei der Kartoffel, die wohl am meisten unter den beschränkten Verhältnissen der Topfkultur litt. Bei ihr sank die assimilatorische Leistung mit Eintritt der Begasung rapide ab und führte zu starker Ausscheidung von Kohlensäure. Mit Rückgang der Kohlensäurekonzentration fand dann wieder Übergang zu normalen Assimilationsverhältnissen statt. Tabelle 2 veranschaulicht diese Verhältnisse. Das Licht war am Versuchstage relativ schwach, so daß während des ganzen Tages das Licht der begrenzende Faktor war. Die Assimilationswerte zeigen daher auch während des ganzen Tages sehr deutliche Beziehungen zu den Veränderungen in der Beleuchtung, solange der Kohlensäuregehalt der Luft normal war. In der Zeit zwischen 10 Uhr und 10^{45} Uhr wurde aber begast, die Kohlensäurekonzentration stieg dadurch auf etwas mehr als das Doppelte, und die Assimilation sank infolgedessen von

Tabelle 2.

Uhr	CO_2 mg pro Liter	relative Assimilation	relative Lichtintensität
8^{00}	0,82	+ 100	60
8^{45}	0,75	+ 300	120
9^{30}	0,75	+ 210	100
10^{00}	0,70	+ 330	160
10^{45}	1,50	— 170	120
11^{30}	1,80	— 530	120
12^{00}	1,50	+ 100	120
12^{40}	0,60	+ 160	120
13^{30}	0,60	+ 100	80
14^{20}	0,60	+ 40	40

330 um 10 Uhr auf — 170 um 10[45] Uhr. Bei der noch zunehmenden Kohlensäurekonzentration finden wir um 11[30] Uhr einen noch stärkeren negativen Wert, worauf die Assimilation mit abnehmender Kohlensäuremenge (das Gewächshaus wurde gelüftet) wieder anstieg, um ab 12[40] Uhr, als wieder normale Kohlensäureverhältnisse erreicht waren, wieder dem Gange der Lichtintensität zu folgen.

Wurden solche Pflanzen dann umgetopft und wiederum begast, so trat nun wieder normale positive Reaktion auf die Kohlensäuredüngung ein.

Wenn auch noch nicht bekannt ist, welche Faktoren im einzelnen bei der vernachlässigten Umtopfung die negative Wirkung auslösten, und wenn weiterhin auch noch nicht feststeht, ob alle Pflanzenarten in der gleichen Weise reagieren, so ergibt sich doch einerseits, daß der Assimilationsapparat der Pflanzen viel leichter beeinflußbar ist, als man es bisher wußte, und andererseits für die Praxis der Kohlensäuredüngung die Notwendigkeit, bei den Begasungen auf tadellosen Zustand der Pflanzen zu achten, da sonst evtl. das Gegenteil von dem erreicht wird, was man anstrebt.

Ein weiterer Faktor, der für die Kohlensäuredüngung mindestens bei gewissen Pflanzen von Bedeutung ist, ist das Alter der Blätter. Bei der Zimmerlinde konnten wir allerdings bei den vergilbenden alten Blättern keine andere Reaktion auf die Begasung feststellen als bei den jungen Blättern, anders dagegen bei Freilandexemplaren der Bohne und der Birke, die im Oktober untersucht wurden. Im Sommer hatten ihre Blätter auf Kohlensäuredüngung mit einer Verstärkung der Assimilationsintensität geantwortet, und auch im Herbste assimilierten sie noch normal in gewöhnlicher Luft, bei Begasung dagegen wies ihre Assimilation im Herbst außerordentlich starke Unregelmäßigkeiten auf und schlug häufig und langdauernd in stark negative Werte, also Kohlensäureausscheidung, um. Die Kohlensäuredüngung übte hier also eine durchaus ungünstige Wirkung aus.

Ganz abgesehen von der Bedeutung für die theoretische Beurteilung der Assimilation zeigen unsere Versuche wohl schlagend, daß das physiologische Experiment sich auf direktestem Wege auch zum Nutzen der Praxis auswirken kann.

d) Assimilation von Kälte- und Wärmeindividuen

Kultiviert man untergetauchte Wasserpflanzen längere Zeit bei verschiedener Temperatur aber unter sonst gleichen Bedingungen und untersucht dann ihre Assimilation, so findet man, daß der Assimilationsapparat der Pflanzen sich an die Temperatur angepaßt hat. Bei einer Temperatursteigerung von 8 auf 18° C nimmt die Assimilationsintensität bei den Wärmeindividuen viel stärker zu als bei den Kälteindividuen. Der Quotient

$$\frac{\text{Assimilationsintensität bei höherer Temperatur}}{\text{Assimilationsintensität bei niederer Temperatur}}$$

ist bei den Wärmepflanzen also größer als bei den Kältepflanzen. Für diese von Harder gefundenen Verhältnisse hat er verschiedene Erklärungsmöglichkeiten diskutiert und ist zu dem Schluß gekommen, daß der Unterschied zwischen den Wärme- und Kältepflanzen am wahrscheinlichsten auf eine Anpassung des Assimilationsenzyms als des temperaturempfindlichen Faktors zurückzuführen sei. Da dieses Enzym, für das Willstätter die ersten Belege erbracht hat, aber einstweilen noch hypothetisch ist und nicht isoliert werden kann, so hat Fräulein Dr. Luippold[1]) Modellversuche mit einem anderen isolierbaren Ferment von Kälte- und Wärmepflanzen angestellt, um zu prüfen, ob bei diesem eine Anpassung an die Kulturtemperatur stattfindet. Benutzt wurde dafür die Diastase des Pilzes Aspergillus niger, der bei 35° und bei 15° C gezüchtet wurde. Bei der Bestimmung des Quotienten

$$\frac{\text{Wirkungsgeschwindigkeit bei } 35^0}{\text{Wirkungsgeschwindigkeit bei } 15^0}$$

ergab sich jedoch, daß die Züchtungstemperatur keinen direkten Einfluß auf den Quotienten ausübt. Dagegen erwies sich der Quotient als abhängig von der Wasserstoffionenkonzentration des Dispersionsmittels. Sucht man daraus Beziehungen zu den Harderschen Versuchen herzustellen, so scheint die Folgerung am wahrscheinlichsten, daß

---

[1]) E. Luippold, Über den Einfluß der Kulturtemperatur und des Nährbodens auf die Wirkungsgeschwindigkeit der Diastase von Aspergillus niger nebst Betrachtungen über die Assimilation von Wärme- und Kältepflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot., 1929, Bd. 70, S. 26—56.

das Protoplasma warm bzw. kalt gezüchteter Blätter ein verschiedenes p_H hat, vorausgesetzt, daß man die Unterschiede in der Assimilationsintensität überhaupt als enzymatisch bedingt zu betrachten hat, und ferner vorausgesetzt, daß die bei der Assimilation etwa tätigen Enzyme eine ähnliche Abhängigkeit vom p_H besitzen, wie es für die Diastase der Fall ist.

e) Treibversuche mit Kohlensäuredüngung und nächtlicher elektrischer Beleuchtung

Für die gärtnerische Praxis ist es von großer Bedeutung, die Handelspflanzen in möglichst kurzer Zeit verkaufsfertig zu haben. Besonders im Winter ist dies wichtig, weil durch Abkürzung der Kulturzeit im Gewächshaus viel Heizmaterial gespart wird. Es können daher im Winter sogar relativ teuere Treibverfahren, z. B. die elektrische Zusatzbeleuchtung, noch rentabel sein, wenn man sie bei der Kultur hochwertiger Verkaufsobjekte (Rosen u. dgl.) in Anwendung bringt. Gelingt es zudem, durch das Treiben die Entwicklung der Pflanzen so zu beschleunigen, daß sie zu einer Jahreszeit verkaufsfertig sind, in der die betreffende Art bei normaler Kultur überhaupt nicht auf den Markt zu bringen ist, so bedingt das einen weiteren wirtschaftlichen Nutzen für den Züchter.

Von derartigen rein praktischen Gesichtspunkten aus haben wir eine Entwicklungsbeschleunigung durch Steigerung der Kohlensäureassimilation angestrebt. Da die Assimilation, wie schon gesagt, stark abhängig ist sowohl von der Intensität des Lichtes wie von der Konzentration der Kohlensäure, so liegt es sehr nahe, eine Entwicklungsbeschleunigung dadurch herbeizuführen zu suchen, daß man im Winter elektrische Zusatzbeleuchtung und Kohlensäuredüngung miteinander paart.

Die Versuche[1]) wurden in einem Gewächshaus ausgeführt, das in vier gegeneinander licht- und gasdicht abgeschlossene Abteilungen aufgeteilt war. Die vier Abteilungen hatten genau gleiche Temperatur und wurden gleichmäßig mit Pflanzen beschickt. In Abteilung I

---

[1]) R. Harder, E. Keppler und H. Reuß, Beobachtungen über das Pflanzenwachstum und die Kohlensäureassimilation bei Kohlensäuredüngung und nächtlicher Zusatzbeleuchtung, „Die Gartenbauwissenschaft", 1931, Bd. 5, S. 389—428.

wurden die Pflanzen normal kultiviert (Kontrollabteilung), in der zweiten wurde mit Kohlensäure gedüngt (Kohlensäureabteilung), in der dritten war bei Tage alles normal, nachts wurden die Pflanzen aber von 22—6 Uhr mit elektrischem Licht beleuchtet (Lichtabteilung), und in der vierten Abteilung wurde wie in Abteilung III nachts beleuchtet und dazu sowohl bei Tage wie auch in der Nacht mit Kohlensäure gedüngt (Licht+Kohlensäureabteilung).

Die Untersuchungen wurden während zweier Winter an einer größeren Anzahl verschiedener Pflanzenarten durchgeführt, für die Hauptversuche kamen 120 eingetopfte Hortensien zur Verwendung. Die Hortensien wurden deshalb gewählt, weil sie unter normalen Kulturbedingungen im Anfang des Winters eine Ruheperiode durchmachen und daher von den Handelsgärtnern nicht vor Februar-März auf den Markt gebracht werden; unser Ziel war aber, die Pflanzen schon zu Weihnacht verkaufsfertig zu haben. Der Versuch begann am 22. Oktober. Schon eine Woche nach Versuchsbeginn zeigten sich in den vier Abteilungen Unterschiede in der Entwicklung und allmählich bildeten sich sehr starke Verschiedenheiten sowohl hinsichtlich des Wachstums wie auch bezüglich des Termins und der Üppigkeit des Blühens aus. Die ersten voll erblühten, verkaufsfertigen Pflanzen traten nach 5 Wochen (28. November) in der Licht+Kohlensäureabteilung auf, in der unbegasten Lichtabteilung vergingen dagegen 6 Wochen bis zur Vollblüte. In der Kohlensäureabteilung konnten erst nach 8 Wochen die ersten Pflanzen als verkaufsfertig bezeichnet werden; sie hatten aber nur kleine, unschöne Blütenstände. In der Kontrollabteilung schließlich war erst nach 11 Wochen die Blüte erreicht; die Pflanzen hatten aber fast gar keine neuen Blätter gebildet, viele ihrer Triebe waren noch unentwickelt oder hatten „sitzengebliebene" Blütenstände, so daß die ganze Serie keinen Verkaufswert hatte. Es war also ein sehr deutlicher Anstieg vorhanden von der Kontrollabteilung über die Kohlensäureabteilung zur Lichtabteilung und von dort zur Licht+Kohlensäureabteilung. Da im Winter die Lichtintensität der begrenzende Faktor für die Assimilation ist, so wurde durch die nächtliche Beleuchtung allein ein sehr wesentlich besserer Erfolg erzielt als durch die Kohlensäuredüngung allein. Bei den nachts beleuchteten Pflanzen dagegen rief die Begasung noch eine beträchtliche weitere Förderung hervor. Im Hinblick darauf, daß die Kohlensäuredüngung nur äußerst geringe Unkosten bereitet, aber eine Verkürzung der Kulturdauer im beleuchteten Hause von 6 auf 5 Wochen ermöglicht, also eine Er-

sparnis von fast 20% an Heizmaterial und elektrischem Strom mit sich bringt, muß die Begasung in Verbindung mit nächtlicher Zusatzbeleuchtung als sehr günstig bezeichnet werden. Diese Ergebnisse wurden mit der Hortensiensorte Madame Moullière erzielt, und zwar an Pflanzen, die ohne besondere Vorbereitung im Herbst in den Versuch genommen wurden. In der gärtnerischen Praxis ist es aber üblich, durch Eingraben der ganzen Pflanzen unter die Erde zunächst „das Holz zum besseren Ausreifen zu bringen", und erst solchermaßen vorbereitete Pflanzen zum Treiben zu verwenden. An solchen Exemplaren erhielten wir durch die Beleuchtung keine Abkürzung der Entwicklung bis zum Eintritt des Blühens gegenüber den ohne Vorbehandlung unserem Verfahren unterworfenen Pflanzen. Die Blüte trat erst nach 6 Wochen ein; da die Vorbehandlung Zeit erfordert, so konnte mit dem Treiben aber erst Ende November begonnen werden, so daß die ersten verkäuflichen Pflanzen erst im Januar fertig waren und für den Weihnachtsmarkt daher nicht mehr in Betracht kamen. Zur Erzielung sehr früher Blüten hat das Eingraben daher keine Bedeutung; dagegen war es für die nicht belichteten Abteilungen von Nutzen, weil sich die Pflanzen gleichmäßig zu hübschen, frischbeblätterten Exemplaren entwickelten. Zwar waren sie nicht so hochwertig wie die aus den Lichtabteilungen, waren aber nach 11 Wochen (also Anfang Februar) doch gleichmäßig durchgebildet und verkaufbar, während die ohne Eingraben in den Versuch genommenen Pflanzen bei normaler Kultur überhaupt nicht richtig verkaufsfertig wurden.

Andere Hortensiensorten ergaben in großen Zügen ähnliche Resultate wie Madame Moullière, in Einzelheiten zeigten sie aber nicht unerhebliche Abweichungen. Es lassen sich also selbst bei ein und derselben Art keine allgemeingültigen Schlüsse aus dem Verhalten einer der Handelssorten über die Reaktion der anderen Sorten ziehen.

Abgesehen von der Blütenbildung wurde in außerordentlich starkem Maße die Blattbildung durch die verschiedene Behandlungsweise beeinflußt. Bei der Sorte Chautard wurden in 81tätiger Kultur neu gebildet:

in der Kontrollabteilung	61,0	qcm	Blattfläche
in der Kohlensäureabteilung	258,4	„	Blattfläche
in der Lichtabteilung	819,1	„	Blattfläche
in der Licht + Kohlensäureabteilung	3171,2	„	Blattfläche

Außer bei der Hortensie wurden auch bei vielen anderen Pflanzen im Winter starke Abkürzungen der Zeit bis zur Blütenentwicklung durch die Licht+Kohlensäurebehandlung erzielt, so beim Löwenmaul von 116 auf 49 Tage und bei Cinerarien von 54 auf 30 Tage. Bei Glockenblumen trat die Blüte nach 48 Tagen ein, während die Pflanzen in der Kontrollabteilung im Winter überhaupt nicht zur Blüte kamen. Auch bei Rosen, Azaleen und verschiedenen Primelarten waren Förderungen zu verzeichnen, wohingegen Schwertlilien, die die Stoffe zur Blütenbildung in der Hauptsache ihren unterirdischen Speicherorganen entnehmen und daher nur in nebensächlichem Maße auf die Assimilation durch die Blätter während der Blütenentwicklung angewiesen sind, nur geringen Nutzen aus der Behandlung zogen.

Von fruchttragenden Pflanzen reiften Gurken ihre Früchte in der Licht+Kohlensäureabteilung um 18 Tage früher als in der Kontrollabteilung und ergaben eine Mehrernte von 11%. Bei Erdbeeren wurde die Fruchtentwicklung bis zur Reife im Winter überhaupt erst durch die nächtliche Beleuchtung möglich; es wurden innerhalb der Versuchszeit in der Lichtabteilung 82 g geerntet; die Begasung steigerte das Resultat aber noch um fast 100% (159 g), während in der nachts nicht beleuchteten Kohlensäureabteilung überhaupt nichts und in der Kontrollabteilung nur 3 g geerntet wurden.

Aber durchaus nicht alle untersuchten Arten ergaben so gute Erfolge, sondern manche zeigten keine Förderung, einige wurden sogar gehemmt. Die Gründe dafür sind mannigfaltig: Zugehörigkeit zum Typus der Kurztagspflanzen, Ungeeignetheit zur winterlichen Kultur überhaupt, Unvollkommenheiten an den bei unseren Versuchen zur Verfügung stehenden Einrichtungen u. dgl. m. Noch viele weitere Arbeit ist daher nötig, ehe dem Praktiker für die wesentlichsten Handelspflanzen die erforderlichen Hinweise gegeben werden können.

B. Wüstenvegetation

Um einen wirklichen Einblick in die Leistungsfähigkeit des Assimilationsapparates der Pflanzen zu bekommen, genügt es nicht, die Verhältnisse nur bei der einheimischen Flora zu untersuchen, sondern man muß auch möglichst extreme Standorte mit in den Kreis der Beobachtungen ziehen. Deshalb haben Harder, Filzer und

Lorenz[1]) vom August bis Oktober 1929 Untersuchungen über die Assimilation der Wüstenpflanzen in der Umgebung der südalgerischen Saharaoase Beni Unif ausgeführt. Da genügend Apparaturen mitgeführt wurden, konnte methodisch genau so gearbeitet werden wie in Europa.

Die klimatischen Verhältnisse waren dem Vorhaben sehr günstig. Die letzten ausgiebigen Regen waren im September des vorherigen Jahres niedergegangen, dann war im April des Versuchsjahres noch einmal etwas Regen gefallen, der Sommer war aber völlig niederschlagslos. Der schwere, tonige Boden der Kieswüste war daher äußerst wasserarm[2]). Nahe der Oberfläche betrug sein Feuchtigkeitsgehalt Null bis wenig über 1% und in 50—70 cm Tiefe, bis wohin die Wurzeln der Wüstenpflanzen kaum hinabgehen, auch meist nur 2,5—4%, selten bis 7%; weiter unten wurde der Wassergehalt dann schon wieder geringer. Nur in ausgetrockneten Bachbetten war der Feuchtigkeitsgehalt größer; obgleich sie oberflächlich genau so staubtrocken waren wie die Wüste, enthielt der Sand hier in 20—45 cm Tiefe stellenweise 20—34% Wasser. Hier waren die Saugkräfte des Bodens, die der Wasseraufnahme durch die Wurzeln der Pflanzen entgegenarbeiten, daher relativ gering, im ganzen übrigen Gebiet aber hoch. In der eigentlichen Wüste schwankten sie zwischen 15 und 140 Atmosphären (bestimmt mit der Ursprungschen Kapillarmethode). Berücksichtigt man, daß nach Bachmann bei uns die Pflanzen schon welken, wenn die Bodensaugung nur 1—2 Atmosphären beträgt, so sind die hohen Bodensaugkräfte der Wüste ein gewiß bemerkenswerter Befund. Daß hier noch Pflanzen gedeihen — wenn auch an den Stellen mit den höchsten Bodensaugkräften nur in äußerster Spärlichkeit und Kümmerlichkeit — ist nur verständlich durch die seit Fitting bekannten sehr hohen Zellsaftkonzentrationen der Wüstenpflanzen, die, wie wir in eigenen Versuchen bestätigen konnten, Saugkräfte von weit über 100 Atmosphären entwickeln können. Trotzdem stehen die Wüstenpflanzen in diesem Gebiete an der äußersten Grenze

[1]) R. Harder, P. Filzer und A. Lorenz. Über Versuche zur Bestimmung der Kohlensäureassimilation immergrüner Wüstenpflanzen während der Trockenzeit in Beni Unif (algerische Sahara). Jahrb. f. wiss. Bot., 1931, Bd. 75, S. 45—194. — R. Harder, Ökologie der Wüstenpflanzen während der Dürreperiode. „Forschungen und Fortschritte", 1932, Bd. 8, S. 156—167.

[2]) R. Harder, Über den Wasser- und Salzgehalt und die Saugkräfte einiger Wüstenböden in Beni Unif (Algerien). Jahrb. f. wiss. Bot., 1930, Bd. 72, S. 665—699.

ihrer Existenzmöglichkeit, und tatsächlich gibt es dort Örtlichkeiten, an denen infolge zu hoher Bodensaugkräfte der Pflanzenwuchs völlig ausgeschaltet ist. Es sind das leichte Bodensenken mit äußerst feinem, tonigem Schwemmboden, der durch die Art seiner Wasserzufuhr außerdem noch relativ salzhaltig ist. Selbst bei dem verhältnismäßig hohen Wassergehalt von 7% fanden wir in solchen Böden Saugkräfte von über 300 Atmosphären, so daß auf ihnen das Aufkommen jeglicher Vegetation unmöglich ist. Nicht ohne Interesse ist, daß im Vergleich zu den von Stocker untersuchten ägyptischen Wüstenböden der Salzgehalt in der Wüste um Beni Unif relativ gering ist (0,5—2%), und daß allein die durch die physikalische Struktur des Bodens bedingten Saugkräfte schon genügen, um die Vegetation stark zu beeinträchtigen bzw. zu unterdrücken.

Alle Pflanzen standen daher unter extremem Wassermangel, der noch unterstrichen wurde durch die große Hitze und Lufttrockenheit. Die Schattentemperatur stieg zwischen dem 11. und 28. Juli täglich auf 46° C, im August bewegte sie sich zwischen 34 und 43° C. Das mittägliche Minimum des relativen Feuchtigkeitsgehaltes der Luft sank im August fast täglich auf 10%, teils noch tiefer, und selbst nachts stieg der Dampfgehalt oft kaum über 20%. Die mit den Picheschen Filtrierpapierscheiben gemessene Evaporation war daher außerordentlich viel größer als bei uns in Deutschland selbst an den allerheißesten Tagen[1]).

Unter diesen Verhältnissen war es naturgemäß von Interesse, zu ermitteln, wie stark sich dabei die Assimilationsorgane der Pflanzen erhitzen. Es wurden deshalb Messungen mittels Thermonadel und Galvanometers angestellt[2]). An relativ feuchten Orten, wie in bewässerten Gärten der Oase und in ausgetrockneten Bachbetten, stieg die Temperatur der Blätter und anderer Assimilationsorgane auch bei voller Besonnung höchstens um 2,5° C über die Schattentemperatur der Luft, meistens waren sie sogar um mehrere Grad kühler als die umgebende Atmosphäre. Die relativ gute Wasserversorgung ermöglichte hier eine verhältnismäßig starke Transpiration, die als kühlender Faktor wirkte. In der Wüste wurden Untertemperierungen

[1]) R. Harder, Notizen über Evaporation und Transpiration in der algerischen Sahara bei Beni Unif. Flora, 1933, Bd. 128 S. 34—49.

[2]) R. Harder, Beobachtungen über die Temperatur der Assimilationsorgane sommergrüner Pflanzen der algerischen Sahara. Z. f. Bot., 1930, Bd. 23, S. 703—744.

der Pflanzenorgane dagegen nur sehr selten gefunden, fast immer war die Körpertemperatur hier höher als die der umgebenden Luft. Als Maximum der Übertemperierung bei unseren Messungen fanden wir bis zu 8° C, was bei der am Versuchstag herrschenden relativ niedrigen Außentemperatur eine Pflanzentemperatur von 44,25° bedeutet. Es kann jedoch keinem Zweifel unterliegen, daß damit die höchste Möglichkeit der Übertemperierung noch nicht erfaßt ist, da wir an den extremsten Tagen leider keine Messungen machen konnten. Interessant ist, daß die höchsten Pflanzentemperaturen durchaus nicht an den heißesten Tagen auftraten, sondern vorwiegend von der Luftbewegung abhingen: bei Windstille wurden die Pflanzen heiß, bei Wind blieben sie relativ kühl. Besonders deutlich ließ sich diese günstige Wirkung des Windes an Polsterpflanzen beobachten; sie waren stets in Luv kühler als in Lee, selbst wenn die Luvseite in voller Sonne und die Leeseite im Schatten lag. Da in der Wüste um Beni Unif fast täglich Wind weht, der sich besonders in der heißesten Tageszeit, den Mittags- und Nachmittagsstunden, nicht selten zu Sturm steigert, und da bei dem Fehlen von jeglichem Windschutz in Gestalt von Büschen oder Bäumen und der außerordentlichen Lockerheit der Bodenvegetation auch schwache Winde schon eine starke Wirkung auf die wenigen vorhandenen Pflanzen ausüben, so ist die Gefahr einer Steigerung der Übertemperierung der Pflanzen durch die starke Sonnenbestrahlung bis zu tödlicher Wirkung in der Wüste keine allzu große. Temperaturen der Assimilationsorgane um und über 40° kommen aber zweifellos nicht selten vor[1]).

Es sind also in sehr vielfacher Hinsicht die Vegetationsbedingungen in der Wüste während der sommerlichen Hitze- und Dürreperiode sehr viel ungünstiger als in unserem Klima. Die Pflanzen stehen hier an der Grenze der Lebensmöglichkeiten, und es mußte daher von besonderem Interesse sein, festzustellen, ob unter solchen Verhältnissen der Assimilationsapparat der Pflanzen überhaupt noch funktionsfähig

[1]) Die in der Wüste gemachten Beobachtungen gaben den Anlaß, die Resistenz der Pflanzen gegen extreme Temperaturen (Hitze wie Kälte) im Laboratorium einer experimentellen Prüfung zu unterziehen. Da die Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind, kann hier noch nicht ausführlich darüber berichtet werden, hinsichtlich der Kälteexistenz ergab sich aber die überraschende Feststellung, daß gewisse Algen und Pilze im gewöhnlichen vegetativen Zustand die Einwirkung einer Kälte von —70° C während 8 Tagen und einer solchen von —190° mindestens bis zu 13 Stunden Dauer (längere Zeiten sind vorläufig noch nicht geprüft worden) zu ertragen vermögen. (H. Kärcher, „Über die Kälteresistenz einiger Pilze und Algen", Planta, 1931, Bd. 14, S. 515—516).

ist. Es wäre an sich gut vorstellbar, daß die Pflanzen sich dann in Ruhe befänden und nur während der weniger heißen und meistens auch niederschlagsreicheren Wintermonate physiologisch aktiv wären.

Überraschenderweise war das aber nicht der Fall, sondern sämtliche untersuchten Arten — darunter Vertreter der verschiedensten habituellen Typen und der verschiedensten Standorte — waren assimilatorisch tätig. Dabei stieg die Temperatur in den Assimilationskammern zeitweise auf 50° C! Allerdings waren die Tageskurven der Assimilation fast ausnahmslos sehr unregelmäßig, teilweise wurde sogar am hellen Tage Kohlensäure ausgeschieden. Eine genaue Inbezugsetzung des Tagesganges der Assimilation zu den Veränderungen der Außenfaktoren, wie wir es bei den Versuchen in unserem Klima durchführen konnten, war bei den mehr den Charakter einer ersten Orientierung tragenden Untersuchungen in der Wüste noch nicht möglich; jedoch geht die Annahme kaum fehl, daß die außerordentlich hohe Temperatur, sowie Schwierigkeiten in der Wasserversorgung hauptsächlich für die Unregelmäßigkeiten verantwortlich zu machen sind.

Wenn auch sämtliche untersuchten Vertreter die Fähigkeit besaßen, trotz extremster Trockenheit des Erdreiches und der Atmosphäre den Gasaustausch mit der Außenluft aufrecht zu erhalten, so haben die einzelnen Arten es in dieser Kunst doch zu ganz verschiedener Vollendung gebracht. Als direkt erstaunlich muß die physiologische Leistungsfähigkeit von Haloxylon articulatum bezeichnet werden, einem kleinen, überall in der algerischen Sahara verbreiteten ausdauernden Zwergstrauch mit zu Schuppen reduzierten Blättern. Trotz der Schwierigkeit der Wasserversorgung gab die Pflanze auf dem Wege der Transpiration große Mengen von Wasserdampf an die Atmosphäre ab, wodurch sie offenbar erhebliche Verdunstungskälte erzeugte, die die Assimilationsorgane vor Übertemperierung schützte. Jedenfalls assimilierte Haloxylon mit auffallend großer Intensität und erzielte so große Assimilationsüberschüsse, daß Blüten- und Fruchtbildung möglich war. An diese Leistung kam keine andere Art heran. Die meisten zeigten einen nur relativ schwachen Gaswechsel, der erst, nachdem im September Regenfälle eingetreten waren, zu größerer Höhe anstieg. Doch war auch bei ihnen die Assimilationstätigkeit unterschiedlich, und es ließ sich direkt eine absteigende Reihe aufstellen, die von Haloxylon als dem leistungsfähigsten Vertreter über verschiedene Arten hinabführte zu Zollikoferia arborescens.

Zollikoferia arborescens ist ein kleiner, während der Dürre blattloser, dornenstarrender Strauch, bei dem die Assimilation wenigstens im Sommer durch das grüne Rindengewebe der Sprosse besorgt wird. Die Pflanze stellt bei Beni Unif die wohl häufigste Art dar; wir waren daher sehr überrascht, als wir feststellten, daß ihre Assimilationstätigkeit im Sommer so gering ist, daß sie kaum je zu einem Assimilationsüberschuß kommt. Sie ist den verschärften Bedingungen des Hochsommers sogar so schlecht gewachsen, daß sie — teils wohl unter der direkten Wirkung der Hitze, teils durch Aushungerung infolge mangelhafter Assimilation — ganze Zweige unter Vergilbung verliert. Ihre weite Verbreitung beruht auch, wie wir später fanden, gar nicht auf der Leistungsfähigkeit ihres Assimilationsapparates während der ungünstigen Jahreszeit, sondern auf einer geradezu erstaunlich zu nennenden Regenerationsfähigkeit nach Wiedereintritt günstigerer Verhältnisse. Auch gewisse andere Arten zeigten während des Sommers nur geringe assimilatorische Tätigkeit, sie litten darunter aber nicht sonderlich, weil gleichzeitig auch die dissimilatorischen Prozesse bei ihnen sehr schwach waren, so daß ihre Stoffbilanz nicht besonders ungünstig ausfiel. Im umgekehrten Sinne bereitete uns ein anderer kleiner Strauch, Thymelaea microphylla, Überraschungen. Die Pflanze hat nach eingetretenem Regen einen dichten und reichlichen Besatz saftiger grüner Blätter, im Sommer steht sie dagegen gänzlich kahl da und macht unter ihrem gelbbraunen Haarkleid einen völlig toten Eindruck. Gegen alles Erwarten zeigte sich aber, daß die Pflanze auch im blattlosen Zustand zur Assimilation befähigt ist; das Chlorophyll ihres Rindenparenchyms ist unserem Auge nur durch den Haarbezug verdeckt. Allerdings war der erzielte Stoffgewinn bei weitem nicht ausreichend, um den 24stündigen Stoffbedarf zu decken, sondern ist nur als ein Notbehelf zu betrachten, um in der Zeit der durch Wassermangel bedingten geringsten Oberflächenentwicklung dem allergrößten Stoffverlust vorzubeugen.

Diese wenigen Beispiele aus der Fülle des gesammelten Materials — es wurden u. a. auch noch Wed- und Kulturpflanzen mit in den Kreis der Untersuchungen gezogen, Atmungsversuche gemacht, die über den Grad der abbauenden Tätigkeit und das Verhältnis der aufbauenden zu den abbauenden Prozessen orientierten u. dgl. m. — zeigen, daß die Wüstenpflanzen sehr verschiedene Wege einschlagen können, um sich während der ungünstigen Jahreszeit ihre Kohlenstoffernährung zu sichern.

Neben dem exakten Laboratoriumsexperiment, das stets die Basis aller physiologischen Forschung bilden muß, hat daher auch die Beobachtung am Standort ihre Bedeutung, weil uns dadurch Perspektiven eröffnet werden, die der Laboratoriumsversuch niemals auch nur ahnen lassen könnte.

Aus der Gesamtheit aller vorstehend erörterten Untersuchungen, die dem zur Verfügung stehenden Raum entsprechend nur in ganz großen Zügen unter Weglassung aller Einzelheiten besprochen werden konnten, dürfte als gemeinsames Ergebnis aller Versuche einleuchten, daß die Kohlensäureassimilation ein Vorgang ist, der in der allermannigfaltigsten Weise von äußeren wie inneren, im Plasma der Pflanze selbst ruhenden Faktoren abhängig ist, und daß noch viele Arbeit notwendig sein wird, ehe die große Zahl der noch offenen Fragen einer Lösung entgegengeführt ist.

2. Zur Kenntnis der Kohlensäureassimilation unter konstanten Außenbedingungen[1])

Von August Arnold

Bei Untersuchungen über die in grünen Pflanzen stattfindende Assimilation, d. h. also über den Aufbau organischer Substanz aus der Kohlensäure mit Hilfe der Energie des Lichtes hat man schon früh erkannt, daß die Intensität dieses Prozesses in weitem Maße von den Außenfaktoren wie Licht, Temperatur, Kohlensäurekonzentration usw. abhängt. Man hat bei Konstanz aller übrigen Faktoren einen einzelnen Faktor stufenweise geändert und aus der gleichzeitig beobachteten Veränderung der Assimilationsleistung auf seine Wirkung geschlossen. Dabei wurde aber stillschweigend vorausgesetzt, daß bei Konstanz dieses Faktors auch seine Wirkung konstant bleiben würde; daß also ceteris paribus auch die Assimilation unter solchen Umständen konstant verlaufen würde. Führt man nun dahinzielende Versuche aus, so zeigt sich, wie auch Harder 1930 an dem Wassermoos Fontinalis fand, daß diese bisher gemachte Voraussetzung keineswegs begründet war.

Sprosse von Helodea canadensis, einer völlig unter Wasser lebenden Pflanze, die sich für solche Versuche ganz besonders eignet, wurden unter konstanten Versuchsbedingungen auf ihre Assimilationsintensität hin untersucht. Während Harder seine Versuche nur bei 14000—16000 MK ausführte, benutzte ich in meinen Versuchen Beleuchtungsintensitäten von 2300, 4000, 6000 und 18000 Lux und außerdem Sonnenlicht. Bei 2300 Lux ist die Assimilationsintensität während der ganzen Versuchsdauer so gering, daß praktisch die Leistungswerte in den aufeinanderfolgenden Zeiten als gleich hoch

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) Arnold, A., Der Verlauf der Assimilation von Helodea canadensis unter konstanten Außenbedingungen. Zugleich ein Beitrag zur Kritik der Blasenzählmethode. Planta 1931, Bd. 13, S. 529—574.

zu betrachten sind. Bereits bei 4000 Lux zeigen die Kurven einen anderen Verlauf. Es erfolgt nach Versuchsbeginn ein sich über mehrere Stunden erstreckender Anstieg in der Assimilationsleistung bis ein Maximalwert erreicht ist, dann bleibt die Assimilationsintensität annähernd konstant oder sinkt langsam ab. Mit zunehmender Intensität der Belichtung wird der Maximalwert immer schneller erreicht. Gleichzeitig wird er um so ausgeprägter und um so höher je intensiver die Belichtung ist. Auf diesen Maximalwert folgt dann ein Rückgang der assimilatorischen Leistung, der bei starker Lichtintensität, also nach voraufgehenden hohen Maximalwerten sehr steil ist und alsbald bis zum Nullwert hinunterführt. Bei niedrigeren Lichtintensitäten erfolgt dieser Rückgang der Leistung immer langsamer. Eine Deutung derartiger Assimilationskurven läßt sich mit Hilfe der drei Harderschen Faktoren durchführen. Mit Harder nehmen wir dabei folgendes an:

1. Das Licht löst eine Aktivierung des Assimilationsapparates aus, womit sich der Anstieg der Leistung bis zum Maximalwerte erklären läßt. Dabei machen wir jedoch die Zusatzannahme, daß die Intensität der Aktivierung mit der Intensität des Lichtes ansteigt.
2. Bei langdauernder Lichtwirkung gewinnt eine Gegenreaktion über die Aktivierung mehr und mehr die Oberhand. Diese bewirkt, daß die Leistung nach dem erreichten Maximalwert wieder absinkt. Auch für diese Gegenreaktion müssen wir auf Grund unserer Befunde eine Abhängigkeit von der Lichtintensität annehmen, derart, daß bei stärkerem Licht diese Gegenreaktion eine stärkere Wirkung zu entfalten imstande ist und zeitlich eher einsetzt, als in schwächerem Licht. Dadurch ließe sich der mehr oder weniger steile Abfall der Kurven erklären.
3. Außer diesen beiden Faktoren konnte Harder noch einen dritten eliminieren, der in gleichem Sinne wirkt wie die Gegenreaktion und welchen er als Ermüdung bezeichnet. In unseren Versuchen ist dieser Faktor zusammen mit der Gegenreaktion erfaßt worden.

Die Beleuchtungsintensität in unseren Versuchen, bei der sich die Aktivierung und die Gegenreaktion längere Zeit die Waage halten, liegt bei etwa 3—4000 Lux. Unter solchen Versuchsbedingungen läßt sich eine andere Erscheinung recht deutlich beobachten, die in den Kurven

mit steilem Leistungsabfall verdeckt ist und in den Kurven, wie sie bei geringer Lichtintensität erhalten werden, infolge der absolut geringeren assimilatorischen Leistung nicht eintritt. Es handelt sich hier um eine vorübergehende Leistungsdepression, die sich mit den Harderschen Faktoren nicht erklären läßt. Wir halten es für wahrscheinlich, daß diese Depression in einer reversiblen Chloroplastenverlagerung ihre Ursache hat.

Aus dem Verlauf der Leistungskurven bei den verschiedensten Lichtintensitäten und der Tatsache, daß im Sonnenlicht am Schluß der Versuche eine systrophische Chloroplastenlage vorgefunden wurde, läßt sich der Schluß ziehen, daß die zu den Versuchen verwendete Wasserpest an geringere Lichtintensitäten angepaßt ist, was ihrem, schon von anderen Autoren beschriebenem Charakter als Schattenpflanze durchaus entsprechen würde.

3. Chemische und biologische Untersuchungen über die Chlorophyllbildung und über chlorophyllartige Bakterienfarbstoffe[1])

Mit 4 Abbildungen

Von Kurt Noack

A. Über Chlorophyll

Einleitung

Im 8. Heft dieser Mitteilungen berichtete der Verfasser u. a. über die Anfänge von Untersuchungen, die sich auf den Chemismus der Chlorophyllbildung bezogen und die inzwischen zu einem gewissen Abschluß gelangt sind[2]). Aus der vorigen Mitteilung sei hier folgendes nochmals wiedergegeben:

Der schon seit 1874 bekannte grüne Farbstoff, der sich in kleinsten Mengen in verdunkelt aufgezogenen Blättern befindet und von Monteverde 1894 Protochlorophyll genannt worden ist, steht dem Chlorophyll schon sehr nahe. An größeren Mengen, die aus den eigenartigerweise protochlorophyllführenden Samenhäuten des Kürbisses erhalten wurden, konnten einige qualitative Reaktionen vorgenommen werden. So erwies sich das Protochlorophyll wie das Chlorophyll magnesiumhaltig; das Magnesium konnte durch Säure abgespalten, qualitativ nachgewiesen und auch mittels der Grignard-Reaktion wieder eingeführt werden. Von Bedeutung war ferner die Tatsache, daß das magnesiumfreie Derivat, das Protophäophytin genannt wurde, in seinen spektralen Eigenschaften die größte Ähnlich-

[1]) Aus dem Pflanzenphysiologischen Institute der Universität Berlin.

[2]) Noack, K. und Kießling, W., Zur Entstehung des Chlorophylls und seiner Beziehung zum Blutfarbstoff. 1. Mitt. Zt. f. physiol. Chemie, **182**, S. 13 1929; **2**. Mitt. ebenda **193**, S. 97, 1930.

keit mit einem Farbstoff zeigt, der in der Rindergalle nach Verabreichung von Grünfutter in kleinen Mengen auftritt und als Phylloerythrin (Bilipurpurin) bekannt ist. Entgegen der Meinung der früheren Autoren, die das Protochlorophyll nicht als eine Vorstufe des Chlorophylls, sondern als ein Zersetzungsprodukt betrachteten, vermutete der Verfasser eine unmittelbare genetische Beziehung und nahm auf Grund früherer Untersuchungen, in denen er die photooxydative Wirkung fluoreszierender Farbstoffe bearbeitete, an, daß das Protochlorophyll, das lebhaft rot fluoresziert, in der Pflanze auf dem Wege einer Photooxydation in Chlorophyll übergeht. Diese Vermutung ließ sich dadurch bestätigen, daß Chlorophyll mit reduzierenden Mitteln in die Stufe des Protochlorophylls übergeführt werden konnte. Damit war zugleich ein Anschluß an die Porphyrine gewonnen, da das Protophäophytin zusammen mit dem Phylloerythrin den spektralen Eigenschaften nach den Blutporphyrinen sehr nahesteht.

Diese Befunde sind lediglich mittels qualitativ-chemischer und spektroskopischer Untersuchung erhoben worden und bedurften der genauen präparativen und elementaranalytischen Durcharbeitung, wozu große Mengen Ausgangsmaterial erforderlich waren. Hierüber soll zunächst berichtet werden.

a) Chemische Untersuchungen

Die Untersuchungen wurden von den drei möglichen Seiten in Angriff genommen: Vom Protochlorophyll, vom Phylloerythrin und von den auf künstlichem Weg aus Chlorophyll erzielbaren Reduktionsprodukten her. Vor allem wurde erstrebt, die von Willstätter beim Chlorophyll erhaltene Reihe von Abbauprodukten beim Protochlorophyll zu reproduzieren und in Beziehung zu bringen zu Derivaten, die aus dem noch ungenügend untersuchten Phylloerythrin der Rindergalle und aus künstlich reduziertem Chlorophyll erhalten werden konnten.

Über die Chemie des Chlorophylls sei folgendes vorausgeschickt: Nach den Untersuchungen von Willstätter und Stoll, die neuerdings von H. Fischer, Conant und Stoll weitergeführt werden, enthalten die grünen Blätter zwei grüne Farbstoffe, Chlorophyll a und Chlorophyll b, von denen die b-Modifikation ein Sauer-

stoffatom mehr enthält. Die von Willstätter angegebenen Bruttoformeln lauten:

Chlorophyll a: $[C_{32}H_{30}ON_4Mg]\ (COOCH_3)(COOC_{20}H_{39})$
Chlorophyll b: $[C_{32}H_{28}O_2N_4Mg]\ (COOCH_3)(COOC_{20}H_{39})$

Das Chlorophyll ist ein Pyrrolfarbstoff und besteht aus einem karboxylierten Porphyrinring, d. h. aus vier durch C-Brücken verbundenen Pyrrolkernen, enthält Magnesium komplex gebunden und ist mit Methylalkohol und dem hochmolekularen Alkohol Phytol verestert. Von den zahlreichen Abbauprodukten, die Willstätter aus dem Chlorophyll erhalten hat, kommt für die vorliegende Untersuchung die zum Chlorophyll a gehörige Reihe in Betracht, deren hier zu übergehende Struktur inzwischen durch H. Fischer weitgehend geklärt wurde.

$$\left[C_{31}H_{32}N_4\right]\begin{matrix} COOC_{20}H_{39} \\ COOCH_3 \\ CO \end{matrix}$$
Phäophytin a (= Phytylphäophorbid a)

$$\left[C_{31}H_{32}N_4\right]\begin{matrix} COOCH_3 \\ COOCH_3 \\ CO \end{matrix}$$
Methylphäophorbid a

$$\left[C_{31}H_{32}N_4\right]\begin{matrix} COOH \\ COOCH_3 \\ CO \end{matrix}$$
Phäophorbid a

$$\left[C_{31}H_{32}N_4\right]\begin{matrix} COOH \\ COOH \\ CO \end{matrix}$$
Phytochlorin

$$\left[C_{31}H_{33}N_4\right]\begin{matrix} COOCH_3 \\ COOCH_3 \\ COOCH_3 \end{matrix}$$
Phytochlorin-trimethylester

Es war nun anzunehmen, daß die drei Ausgangssubstanzen, Protophäophytin, Phylloerythrin und künstlich reduziertes Chlorophyll in ihrer Grundstruktur dem Chlorophyll entsprechen, weshalb die Unter-

suchung im wesentlichen auf den Nachweis der für das Chlorophyll typischen Karboxylgruppen und deren Anzahl bei den zu untersuchenden Körpern hinauslief. Unter diesem Gesichtspunkt konnte nun die obige Reihe Willstätters an Hand von kristallisierten Reinpräparaten mit dem Protochlorophyll als Ausgangspunkt wiederholt und ebenso aus künstlich reduziertem Chlorophyll erhalten werden, derart, daß die Derivate in beiden Fällen sich als völlig identisch erwiesen. Gleichermaßen konnte diese Reihe vom Phylloerythrin der Rindergalle her erhalten werden, lediglich mit der Besonderheit, daß die Phylloerythrin-Derivate als Isomere der Glieder in den beiden anderen Reihen anzusprechen sind.

Protochlorophyll

Das Protochlorophyll selbst konnte nicht rein erhalten werden, da der Farbstoff in dem einzig brauchbaren Ausgangsmaterial, den Kürbissamenhäuten, von großen Mengen an Fettstoffen begleitet wird, die durch Vorextraktion nicht abtrennbar waren, und nicht kristallisierte. Dieser letzte Punkt spricht dafür, daß im Protochlorophyll auch schon das Phytol enthalten ist, das auch beim Chlorophyll die Kristallisationsfähigkeit herabsetzt. Auch das Protophäophytin konnte nicht unmittelbar erfaßt werden, da zu seiner Extraktion aus der ätherischen Rohlösung 18%ige Salzsäure erforderlich war, die offenbar schon phytolabspaltend wirkt. Eine Überwindung dieser Hindernisse wurde in Anbetracht der schwierigen Beschaffung des Ausgangsmaterials nicht versucht.

Im folgenden soll die Darstellung des Rohprotophäophytins beschrieben werden, die sich auf der von Willstätter festgestellten Basizität der Chlorophyllfarbstoffe aufbaut, d. h. auf deren Eigenschaft, aus Äther in Salzsäure überzugehen, derart, daß die hierzu nötige Salzsäurekonzentration für die einzelnen Derivate charakteristisch ist; so läßt sich z. B. Phäophytin aus Äther erst mit einer Säure, die mehr als 22% HCl enthält, ausziehen, während sich das Protophäophytin als stärker basisch erwies.

50 g trockene Kürbissamenhäute, die aus keimenden Samen herauspräpariert sind, werden mit 2 Liter Äther extrahiert, worauf die Lösung mehrmals mit 18%iger Salzsäure ausgezogen wird. Die schön grüne salzsaure Lösung wird sofort zur Abtrennung ausfallender Fettstoffe durch ein Hartfilter gegossen und der Farbstoff durch

Neutralisieren mit Soda in Äther übergeführt, worauf die Reinigung mit Salzsäure und das Überführen in Äther wiederholt wird. Die Ätherlösung ist kirschrot mit grünem Tingieren. Nach Ausschütteln mit 10%iger Salzsäure zur Entfernung stärker basischer Verunreinigungen wird der Äther abgedampft, der Rückstand in Pyridin aufgenommen und der Farbstoff mit leicht siedendem Petroläther ausgefällt. Ausbeute 15 mg.

Die Substanz ist spektroskopisch mit einer Rohlösung von Protophäophytin nicht völlig identisch und zeigt Neigung zur Kristallisation. Sie scheint also kein Phytol mehr zu enthalten, wie dies auch aus ihrem niederen C-Gehalt (69,22%) hervorgeht; jedoch waren die Analysenwerte im einzelnen nicht brauchbar, da aller Wahrscheinlichkeit nach ein Substanzgemisch vorlag.

Dagegen gelang es, aus dem Rohprotophäophytin einen kristallisierenden Trimethylester rein zu erhalten, der dem Phytochlorintrimethylester in der Chlorophyll a-Reihe entspricht und daher Protophytochlorin-trimethylester genannt wurde. Die Bezeichnung ist allerdings, wie H. Fischer bemerkt, nicht korrekt, da es sich um ein Porphyrin handelt und nicht um ein Chlorin im Sinne Willstätters, soll aber zunächst beibehalten werden. Dieser Ester konnte durch schwaches Alkali in das dem Phäophorbid a entsprechende Protophäophorbid übergeführt werden, d. h. in eine freie Karbonsäure, die zugleich noch eine Methylestergruppe besitzt:

Der ölige, dunkelgrüne Rückstand einer abgedampften ätherischen Protophäophytinrohlösung aus 50 g Samenhäuten wurde über Nacht bei Zimmertemperatur mit 40 ccm 30%iger methylalkoholischer Salzsäure behandelt und hierauf nach nochmaliger Zugabe von 20 ccm der Säure 3 Stunden lang gekocht. Bei der Aufarbeitung ergab sich eine Substanz von der Zusammensetzung $C_{36}H_{42}N_4O_6(C_{37})$ mit 3 OCH_3-Gruppen, die in leuchtend blauvioletten Prismen kristallisiert.

0,1 g dieses Triesters, gelöst in 500 ccm Alkohol, ließen sich durch Zusatz von 1 ccm 10%iger methylalkoholischer Kalilauge bei Zimmertemperatur über Nacht zu Protophäophorbid ($C_{35}H_{40}N_4O_6$ bzw. C_{37} mit 1 OCH_3-Gruppe) verseifen; das Vorliegen zweier freier Karboxylgruppen ergab sich aus der Löslichkeit des Körpers in sekundärem Natriumphosphat. Die Substanz zeigte starke Neigung zur Anhydrisierung und konnte daher nicht umkristallisiert, sondern nur rasch umgefällt werden. Beachtenswert ist die Tatsache, daß bei der Ver-

seifung des Triesters eine Methoxylgruppe erhalten bleibt; es dürfte sich hier um die auch im Chlorophyll enthaltene Methylestergruppe handeln, da diese sehr schwer durch Alkali verseifbar ist und der enzymatischen Abspaltung durch Chlorophyllase, das die Phytolestergruppe verseift, völlig widersteht. Die Reindarstellung des Protophäophorbids unmittelbar aus Roh-Protophäophytin ist nicht gelungen, da infolge des Gehalts an fettigen Begleitstoffen die zur Verseifung nötige Alkalimenge so groß zu wählen war, daß die entstandene freie Säure der Anhydrisierung anheim fiel. Jedoch konnte dieser Körper gereinigt und mit kleinsten Alkalimengen zu einer freien Karbonsäure aufgespalten werden, die nicht zur Analyse dargestellt wurde, aber in allen ihren Eigenschaften mit dem aus dem Triester erhaltenen Protophäophorbid identisch war.

Es sind somit aus Protophäophytin zwei Körper erhalten worden, die dem Phäophorbid und dem Phytochlorin in der Reihe des Chlorophylls a entsprechen. In der Analogie zwischen Phäophorbid und Protophäophorbid besteht nur der unwesentliche Unterschied, daß bei der erstgenannten Substanz eine der beiden nicht veresterten Karboxylgruppen in anhydrisierter Form vorliegt. Die zum Protophytochlorin-trimethylester gehörige freie Karbonsäure konnte infolge der für die ganze Stoffklasse typischen Neigung zur Anhydrisierung nicht dargestellt werden.

Künstliche Reduktion von Chlorophyllderivaten

Am einfachsten gestalteten sich die Verhältnisse bei Verwendung des Methylphäophorbids a als Ausgangsmaterial, d. h. einem nicht in der Natur vorkommenden Chlorophyllderivat, bei dem der Phytolrest des Phäophytins durch die Methylgruppe ersetzt worden ist.

Bei der Reduktion war der Grundsatz maßgebend, in Anbetracht der oft nicht genügend beachteten Empfindlichkeit des genuinen Chlorophyllmoleküls möglichst schonend vorzugehen. Es ergab sich auch, daß die früher angewandte Methode (vgl. Deutsche Forschung, Heft 8, 1929, S. 90), d. h. die Reduktion mit Eisen und Salzsäure zu Substanzgemischen führt, ebenso ist die Jodwasserstoffreduktion, die auch Hans Fischer kurz nach einer vorläufigen Mitteilung des Verfassers angegeben hat, zu heftig. Brauchbar erwies sich die Reduktion mit Eisenpulver in 80%iger Ameisensäure, wodurch zwar das Phytol abgespalten wird, jedoch die im Molekül vorhandene Methyl-

estergruppe, die primär mit dem Phytol veresterte Karboxylgruppe wie auch künstlich eingeführtes Methoxyl (Methylphäophorbid a) im Gegensatz zur Reduktion mit Jodwasserstoff erhalten bleiben.

Reduktion des Methylphäophorbids a ergab in der Hitze und bei Zimmertemperatur fast quantitativ einen gut kristallisierenden Dimethylester der Zusammensetzung $C_{35}H_{38}N_4O_5(C_{36})$ mit 2 OCH_3. Der erhaltene Körper kann als Methylprotophäophorbid bezeichnet werden und ist nach H. Fischer[1]) mit dem von ihm auf anderem Weg hergestellten Dimethylester des Phäoporphyrins a_5 identisch.

Von dieser Substanz aus konnte nun das vom Protophäophytin her nur auf Umwegen erreichbare Protophäophorbid, d. h. eine freie Karbonsäure, unmittelbar erhalten werden; ferner konnte die Substanz mittels methylalkoholischer Salzsäure in einen Trimethylester überführt werden, der sich in der Elementarzusammensetzung und in allen übrigen Eigenschaften mit dem aus Protophäophytin erhaltenen Protophytochlorin-trimethylester als identisch erwies, auch zeigte der Misch-Schmelzpunkt keine Depression.

Zu bemerken ist noch, daß das sauerstoffreichere Methylphäophorbid b auf dem hier eingeschlagenen Wege nicht reduziert werden konnte, was inzwischen O. Warburg[2]) beim Phäophorbid b auf anderem Wege bewerkstelligte.

Was die Reduktion von Chlorophyll a betrifft, so war es auch bei schonender Behandlung in der Kälte (0° bis —5°) nicht möglich, die Phytolgruppe intakt zu erhalten. Je nach der Reaktionstemperatur entstanden verschiedene Gemische, in der Wärme hauptsächlich ein alkalilöslicher Körper, der spektral mit Methylprotophäophorbid identisch war, jedoch schon beim Überführen in Äther aus alkalischer Lösung anhydrisiert wurde. In kleinen Mengen entstand ein alkaliunlösliches Reduktionsprodukt, das spektral mit Protophäophytin völlig übereinstimmte und demnach vielleicht noch Phytol enthielt. Auch hier führte die Reduktion der sauerstoffreicheren b-Modifikation nicht zu Protochlorophyllderivaten.

Andrerseits konnte aus den Reduktionsprodukten des Phäophytins der Protophytochlorin-trimethylester ebenfalls erhalten werden.

Aus den mitgeteilten Befunden ergibt sich die zentrale Stellung des genannten Triesters, der auch insofern interessant ist, als ihm ein

---

[1]) Fischer, H. u. Mitarbeiter, Annalen der Chemie **486**, S. 165, 1931.

[2]) Warburg, O. und Christian, W., Biochem. Zeitschr. **235**, S. 240, 1931.

bisher nicht bekannter Spektraltypus der Porphyrine zugeordnet ist (vgl. S. 79). Zum Beweis dafür, daß die Triesterpräparate verschiedener Herkunft und somit auch ihre Ausgangssubstanzen strukturell übereinstimmen, wie auch dafür, daß die angewandten Mittel der Verseifung und Veresterung keine strukturelle Änderung bewirken, wurden einzelne Präparate verseift und von neuem mit Diazomethan verestert. Folgende Übersicht mag dies erläutern:

1. Phäophytin $\xrightarrow{\text{Fe/H}}$ Reduktionsgemisch $\xrightarrow{\text{KOH}}$ Protophäophorbid $\xrightarrow{\text{Diazomethan}}$ Triester,
2. Protophäophytin (aus Kürbissamen) $\xrightarrow{\text{HCl/CH}_3\text{OH}}$ Triester,
3. Methylprotophäophorbid $\xrightarrow{\text{HCl/CH}_3\text{OH}}$ Triester,
4. Methylprotophäophorbid $\xrightarrow{\text{KOH}}$ Protophäophorbid, $\xrightarrow{\text{Diazomethan}}$ Triester,
5. Protophäophytin $\xrightarrow{\text{HCl/CH}_3\text{OH}}$ Triester $\xrightarrow{\text{KOH}}$ Protophäophorbid $\xrightarrow{\text{Diazomethan}}$ Triester,
6. Methylprotophäophorbid $\xrightarrow{\text{HCl/CH}_3\text{OH}}$ Triester $\xrightarrow{\text{KOH}}$ Protophäophorbid $\xrightarrow{\text{Diazomethan}}$ Triester.

Sämtliche Triesterpräparate erwiesen sich in allen ihren Eigenschaften identisch. Die C-Werte lagen zwischen 69,03 und 69,71% (berechnet für $C_{36}H_{42}N_4O_6$: 68,96%, für C_{37} 69,33%). Die Schmelzpunkte lagen zwischen 233° und 236°. Misch-Schmelzpunkte zeigten keine oder nur geringfügige Depression. Damit ist die Zusammengehörigkeit sämtlicher neu dargestellter Körper erwiesen.

Untersuchungen des Phylloerythrins

Phylloerythrin ist bis jetzt nur in geringen Mengen präparativ dargestellt worden. Wegen der großen Bedeutung dieses Körpers als tierischer, jedoch aus dem Chlorophyll der Pflanze zweifelsfrei entstehender Farbstoff und wegen seiner engen spektroskopischen Beziehung zum Protochlorophyll bzw. dem Protophäophytin wurde

der Farbstoff unter wesentlicher Verbesserung früherer Methoden aus im ganzen ca. 900 l Rindergalle in größeren Mengen hergestellt. Die Ausbeute war von der durch die Jahreszeit bedingten Menge an Grünfutter abhängig: aus 5 l Galle wurden im Sommer 150 mg, im Winter nur 10 mg Farbstoff erhalten.

Obwohl das Phylloerythrin dank seiner guten Kristallisationsfähigkeit leicht als Reinpräparat erhalten werden kann, war seine Elementarzusammensetzung lange unsicher, bis Marchlewski 1929 die Formel $C_{33}H_{34}N_4O_3$ aufstellte, die hierauf auch H. Fischer auf Grund eigener Analysen annahm. Analysen, die mit eigenen Präparaten des schwer verbrennbaren Körpers angestellt wurden, ergaben dieselben Werte, lassen jedoch mit einer etwas tieferen C-Zahl die auch aus einem später zu erörternden Grunde gegebene Möglichkeit von 4 Sauerstoffatomen zu. Schon 1915 stellte H. Fischer fest, daß das Phylloerythrin trotz seines Sauerstoffgehaltes weder ein Ester noch eine freie Säure sein kann.

Die eigene Untersuchung wurde daher von der Erwägung geleitet, daß ein intramolekulares Säureanhydrid, etwa der Formel $C_{33}H_{30}N_4O_3$ vorliegt. In der Tat gelang es, durch vorsichtigste alkalische Hydrolyse, nämlich durch 4—6stündige Einwirkung von 0,25 ccm 10%iger wäßriger Kalilauge auf eine Aufschlämmung von Phylloerythrin in 50 ccm Isopropylalkohol im Schüttelthermostaten bei 25°, das Phylloerythrin mit 15% Ausbeute in eine freie Karbonsäure aufzuspalten, die in sekundärem Natriumphosphat löslich ist und den Spektraltyp des Protophytochlorins aufweist. Ob diese, wie H. Fischer vermutet, mit der in der Folge von ihm gefundenen Rhodo-porphyrin-γ-carbonsäure identisch ist, muß in Anbetracht der S. 78 zu besprechenden Befunde über C-Verlust beim Phylloerythrin noch dahingestellt bleiben.

Da diese Karbonsäure sauerstoffempfindlich und hygroskopisch ist und außerdem starke Neigung zum Anhydrisieren zeigt, sind die Analysenwerte nicht ganz zuverlässig, sprechen aber bezüglich des C-Wertes für die Formel $C_{33}H_{34}N_4O_5(C_{34})$. Wahrscheinlich liegt also eine Trikarbonsäure vor, bei der eine Karboxylgruppe anhydrisiert ist.

Auf alle Fälle sind entsprechend dem Chlorophyll und dem Protophäophytin drei Karboxylgruppen vorhanden; denn die Behandlung mit Diazomethan ergab einen Triester, der spektroskopisch mit der

freien Säure identisch war ($C_{36}H_{42}N_4O_6$ oder C_{37} mit 3 OCH_3). Dieser stimmt also in der Elementarzusammensetzung mit dem Protophytochlorintrimethylester überein, hat jedoch seinen Schmelzpunkt bei 230° und zeigt gegenüber dem letztgenannten Ester dieselbe Bandenverschiebung, die zwischen Protophäophytin und Phylloerythrin besteht (vgl. S. 79). Sein Schmelzpunkt liegt also etwas tiefer als beim Triester des Protophytochlorins, mit dem er offenbar isomer ist.

Darnach wäre das Phylloerythrin als eine Trikarbonsäure anzusprechen, deren sämtliche Karboxylgruppen anhydrisiert sind, wodurch auch in dieser Reihe der Anschluß an das Chlorophyll hergestellt ist.

Vom Phylloerythrin konnte außerdem eine Nebenreihe erhalten werden, die sich nur durch Abspaltung einer Karboxylgruppe erklären läßt; unmittelbare Veresterung des Phylloerythrins mit methylalkoholischer Salzsäure ergab je nach Stärke der Einwirkung ein Gemisch eines Diesters mit einem Monoester oder einen Monoester mit den spektralen Eigenschaften des Phylloerythrins ($C_{33}H_{36}N_4O_3$ oder C_{34} mit 1 OCH_3), der offenbar aus dem Diester durch Abspaltung einer veresterten Karboxylgruppe hervorgeht. Diesen Ester hat auch H. Fischer erhalten und berechnet ihn auf 33 bis 31 C-Atome mit 3 Mol. Sauerstoff. Verseifung dieses Esters ergab merkwürdigerweise wieder eine Trikarbonsäure unter Erhaltung des Methoxyls von der Formel $C_{33}H_{38}N_4O_6(C_{34})$ mit 1 OCH_3. Die Entstehung einer neuen Karboxylgruppe dürfte mit der oben erwähnten Abspaltung einer Karboxylgruppe bei der Monoesterbildung zusammenhängen. Der aus dieser freien Säure erhaltene Trimethylester ($C_{35}H_{42}N_4O_6$ oder C_{36} mit 3 OCH_3), der wie übrigens auch die freie Säure spektral mit dem normalen Triester identisch ist, schmilzt bei 210—212°, also um etwa 20° tiefer als der normale Triester, worin neben den Analysenwerten ein Beweis für die Abspaltung eines C-Atoms bei der unmittelbaren Veresterung des Phylloerythrins zum Monoester gesehen werden kann.

Von sonstigen Befunden sei noch erwähnt, daß sowohl in der Protophäophytin- als auch in der Phylloerythrinreihe durch Rückanhydrisierung der methoxylhaltigen aufgespaltenen Karbonsäuren alkaliunlösliche Monoester erhalten wurden, die spektral dem Phylloerythrin sehr nahe standen oder mit ihm identisch waren und

5 Sauerstoffatome enthielten; diese müssen sich auf die Estergruppe und eine Säureanhydridgruppe verteilen. Hieraus könnte für das Phylloerythrin, bei dem, wie erwähnt, sämtliche drei Karboxylgruppen in anhydrisierter Form vorliegen, die Gegenwart von vier Sauerstoffatomen abgeleitet werden, die sich auf eine Säureanhydridgruppe und eine Lactongruppe verteilen, wobei die Lactongruppe mit der im Chlorophyll vermutlich vorhandenen identisch sein könnte.

H. Fischer[1]) hat in der Zwischenzeit eine Konstitutionsformel des Phylloerythrins mit 33 C-Atomen mitgeteilt, in der er den Körper im Gegensatz zu seiner früheren Ansicht (vgl. S. 76) als freie Säure (eine Karboxyl- und eine Ketogruppe) charakterisiert. Für das Vorhandensein einer freien Karboxylgruppe konnte in der vorliegenden Untersuchung kein Anhaltspunkt gefunden werden. Die Unstimmigkeit dürfte ihre Erklärung darin finden, daß H. Fischer nicht vom genuinen Phylloerythrin ausging, sondern sich den Farbstoff aus Phäophorbid a mittels Reduktion über Phäoporphyrin a herstellte. In Anbetracht der oben beschriebenen Empfindlichkeit des genuinen Phylloerythrins wäre zunächst die Identität des natürlichen und des künstlichen Phylloerythrins zu beweisen; außerdem wird von H. Fischer in einer besonderen Arbeit[2]) über die Überführung des Phäophorbid a in Phylloerythrin die C-Zahl dieses Phylloerythrins mit 32 angegeben, während die von mehreren Untersuchern ausgeführten Analysen des genuinen Phylloerythrins auf eine Formel mit 33 bzw. 34 C-Atomen hinweisen. In einer neueren Arbeit über synthetisches Phylloerythrin (Annal. **497**, S. 181, 1932) wird wiederum C_{33} zugrunde gelegt; jedoch stimmen die Analysenwerte, besonders der gereinigten Präparate, besser auf C_{32}. Dabei ist nochmals auf den oben beschriebenen Befund zurückzukommen, wonach beim Kochen mit methylalkoholischer Salzsäure aus genuinem Phylloerythrin eine Karboxylgruppe abgespalten wird; H. Fischer erhielt sein künstliches Phylloerythrin über Phäoporphyrin a_6 durch dessen 24stündige Behandlung mit Eisessig-Bromwasserstoff bei 50—55°.

Von wesentlicher Bedeutung für die Untersuchung waren die ausgezeichneten spektralen Eigenschaften der Körper, da diese zum Teil

---

[1]) Fischer, H. und Mitarbeiter, Annal. d. Chem. **485**, S. 1, 1931.

[2]) Annal. d. Chem. **482**, S. 225, 1930.

sehr einfache Beziehungen zu gewissen strukturellen Eigenschaften aufweisen und in der Protochlorophyllreihe zusammen mit derjenigen des Phylloerythrins nur zwei Spektraltypen vorhanden sind, von denen übrigens der eine in der Porphyrinreihe bis jetzt völlig unbekannt war (s. Abb. 2—4).

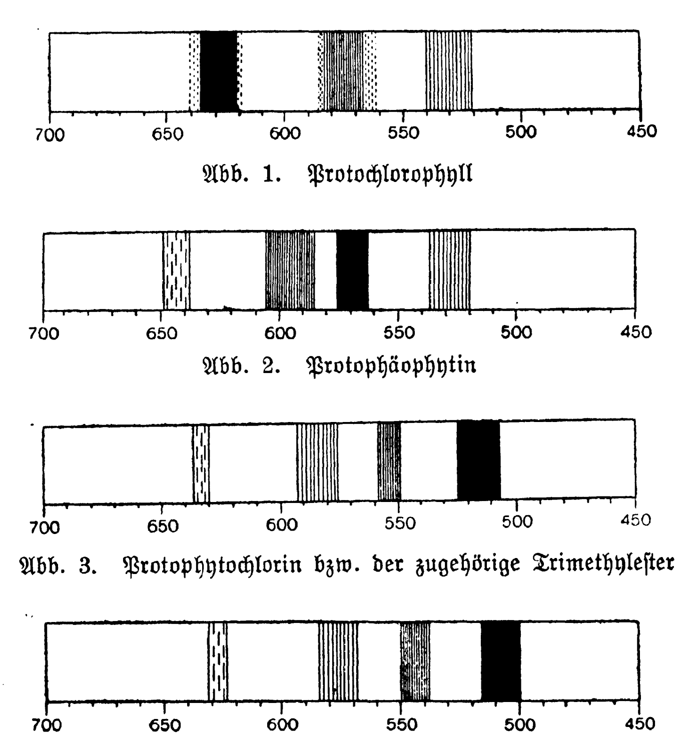


Abb. 1. Protochlorophyll

Abb. 2. Protophäophytin

Abb. 3. Protophytochlorin bzw. der zugehörige Trimethylester

Abb. 4. Phylloerythrin-dikarbonsäure bzw. der zugehörige Trimethylester

Die Unterscheidung zweier spektraler Typen bezieht sich auf die Reihenfolge in der Intensität der vorhandenen vier Absorptionsbanden derart, daß vom Rot her gemessen entweder die Reihenfolge III, II, IV, I oder die bisher unbekannte Reihe IV, III, II, I vorlag, so daß die beiden Typen den in der Protochlorophyll- und Phylloerythrinreihe einander entsprechenden Vertretern sinngemäß zugeordnet sind. Eine Ausnahme macht nur das Protochlorophyll, und zwar auf Grund seines Magnesiumgehaltes, der eine Angleichung des Spektrums an dasjenige des Chlorophylls, d. h. starke Rotabsorption bedingt; jedoch ist das Spektrum des Protochlorophylls weit einfacher als dasjenige des Chlorophylls (s. Abb. 1).

		Reihenfolge der Intensität:
a)	I. 648—638, II. 606—586, III. 576—563, IV. 537—520	III, II, IV, I
b)	I. 644—633, II. 606—582, III. 572—562, IV. 534—521	
c)	I. 643—635, II. 600—578, III. 570—557, IV. 532—515	
d)	I. 637—630, II. 593—576, III. 558—549, IV. 525—507	IV, III, II, I
e)	I. 632—624, II. 585—569, III. 550—538, IV. 517—500	

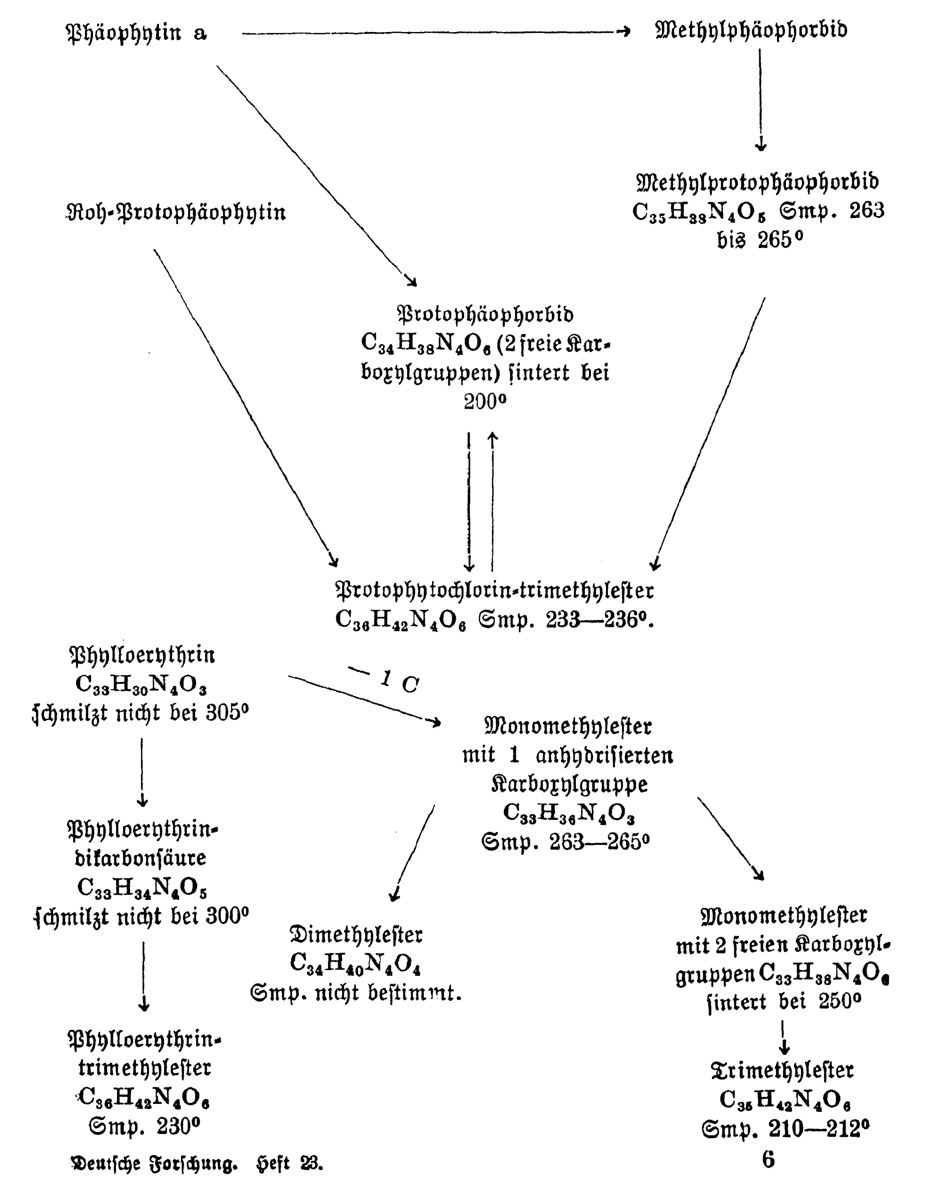
a) Rohprotophäophytin,
b) Methylprotophäophorbid,
c) Phylloerythrin, zugehöriger dekarboxylierter Monomethylester mit anhydrisierter Karboxylgruppe,
d) Protophäophorbid, Protophytochlorin-trimethylester,
e) Phylloerythrindikarbonsäure, Phylloerythrin-trimethylester, zugehöriger Monomethylester mit zwei freien Karboxylgruppen, sämtliche aufgespaltene Derivate der um ein C-Atom ärmeren Glieder der Phylloerythrinreihe.

Aus der Untersuchung im ganzen ergeben sich sehr einfache, wenn auch auf Grund der beschriebenen Ergebnisse nicht völlig aufgeklärte chemische Beziehungen zwischen Protochlorophyll und Chlorophyll. In seinen eingangs erwähnten Veröffentlichungen hatte der Verfasser den Schluß gezogen, daß das Chlorophyll auf dem Wege einer einfachen Photooxydation aus Protochlorophyll entsteht und infolgedessen andererseits die Phylloerythrinbildung im Tierkörper eine Desoxydation des Chlorophylls bedeutet. Für diese Ansicht war maßgebend, daß Analysen von H. Fischer (1929) und Conant (1929) für Methylphäophorbid einen um ein O-Atom höheren Sauerstoffgehalt ergaben, als es den früheren Angaben von Willstätter und Stoll entspricht: $C_{35}H_{38}N_4O_6(C_{36})$ statt $C_{36}H_{38}N_4O_5$ bei Willstätter und Stoll. Neuerdings hat jedoch Stoll (Naturwiss. 1932 S. 791) an neuen Analysen die Richtigkeit der alten Angaben von Willstätter und Stoll für die Phäophorbide bestätigt. Da somit das Chlorophyll und seine nächsten Derivate mit den hier untersuchten Porphyrinen im Sauerstoffgehalt übereinstimmen, kann die Umwandlung von Protochlorophyll in Chlorophyll bzw. die künstliche Reduktion von Chlorophyll zu Porphyrinen nicht im Wechsel eines O-Atoms beruhen.

Diese Umwandlung hat nun auch Stoll auf Grund besonderer Konstitutionsermittlung in neuartiger Weise gedeutet, und zwar derart, daß sich damit weiter unten angeführte, noch nicht veröffentlichte Beobachtungen des Verfassers in Einklang bringen lassen. Stoll erhielt bei der katalytischen Hydrierung von Phäophorbiden in 1. Stufe kristallisierte Hydrophäophorbide und weiterhin fast farblose Perhydroporphyrine; diese oxydieren sich an der Luft zu Porphyrinen durch Dehydrierung. Dies erklärt er damit, daß sich die vier in Frage

Übersicht

Im folgenden soll eine Ableitung der verschiedenen Derivate des Protochlorophylls und des künstlich reduzierten Chlorophylls, ebenso derjenigen des Phylloerythrins gegeben werden, wobei die C-Zahl des Grundkörpers jeweils mit C_{33} eingesetzt ist, jedoch die Möglichkeit C_{34} offengelassen werden muß. Es sind nur die Verbindungslinien gezogen, die sich auf die Herstellung analysierter Präparate beziehen.



kommenden Stufen in der Zahl der Doppelbindungen unterscheiden, derart, daß beim Übergang vom Phäophorbid zu Hydrophäophorbid eine Doppelbindung verschwindet und beim folgenden zu Perhydroporphyrin, die für die Farbe maßgebende stete Konjugation der Doppelbindungen aufgehoben wird, während die anschließende Dehydrierung zu Porphyrin die Neubildung zweier Doppelbindungen bedingt.

Damit kann nun folgender Befund des Verfassers, der gegenwärtig untersucht wird, in Einklang gebracht werden: Phäophytin und auch Methylphäophorbid lassen sich mit Manganperoxyd in saurer Lösung in Porphyrine überführen, die bei Behandlung mit Alkali, und zwar auch in Stickstoff-Atmosphäre in eine Karbonsäure aufgespalten werden.

Was das Verhältnis der beiden Chlorophyllmodifikationen a und b zum Protochlorophyll betrifft, so ist darauf hinzuweisen, daß sich beim Protochlorophyll kein Anhaltspunkt für das Vorhandensein zweier analoger Modifikationen ergeben hat. Es ist somit der Schluß berechtigt, daß die Bildung des sauerstoffreicheren Chlorophylls b über die a-Modifikation erfolgt. Dieser Frage versucht der Verfasser z. Z. nachzugehen; es ist schon mehrmals gelungen, aus Chlorophyll a mittels Wasserstoffperoxyd, also auf eine Weise, die eine Analogie in der lebenden Zelle finden könnte, einen Farbstoff zu erhalten, der sich in seinem spektralen Verhalten dem Chlorophyll b stark nähert und einen höheren Sauerstoffgehalt als Chlorophyll a aufweist. Jedoch lassen sich diese Versuche bis jetzt nicht beliebig reproduzieren. Stoll teilte inzwischen (Nat. Wiss. 1932 S. 889) mit, daß er Phäophorbid b mit Titanchlorid glatt zu Phäophorbid a über die Anhydroverbindung der b-Modifikation reduzieren konnte.

b) Biologische Untersuchungen über die Umwandlung des Protochlorophylls in Chlorophyll

Mit Hilfe der im vorigen beschriebenen chemischen Unterlagen wurde nunmehr die Umwandlung des Protochlorophylls in Chlorophyll in der lebenden Zelle näher untersucht[1]).

[1]) Scharfnagel, W., Biologische Untersuchungen zur Chlorophyllbildung. Planta **13**, S. 716, 1931.

Die früheren Untersucher (Monteverde und Lubimenko 1911, Liro 1909) betrachteten das Protochlorophyll, wie früher erwähnt, nicht als unmittelbare Vorstufe des Chlorophylls, sondern als ein Zersetzungsprodukt, da sie das Protochlorophyll im lebenden Blatt nicht nachweisen konnten.

Mittels des Zeiß-Spektographen gelang es jedoch, nach Überwindung mancher Schwierigkeiten ein einwandfreies Spektrogramm des Protochlorophylls in lebenden, im Dunkeln aufgezogenen Maisblättern zu erhalten, ein Befund, der insofern überraschend ist, als schon nach kurzer Einwirkung kleinster Lichtmengen in etiolierten Blättern das Protochlorophyll restlos in Chlorophyll umgewandelt wird. Genaue Untersuchung ergab, daß die zur Spektrographie nötige Lichtstärke so hoch ist, daß dabei das Protochlorophyll infolge eingetretener Lichtstarre erhalten bleibt; bei Vergrößerung des Abstands zwischen Lichtquelle und Blatt verschwand das Protochlorophyll unter gleichzeitiger Chlorophyllbildung. Vor allem ist im Hinblick auf die Ansicht von Monteverde usw. zu betonen, daß die spektrographierten Blätter durch die Lichtstarre keineswegs geschädigt wurden, sondern nach der Aufnahme noch normal plasmolysierbar und deplasmolysierbar waren und ihr Protochlorophyll in Chlorophyll umwandelten.

Die weitere Frage war nun ,ob die chemischen Beziehungen zwischen Protochlorophyll und Chlorophyll eine photochemische Umwandlung des Protochlorophylls zu Chlorophyll auch im abgetöteten Blatt erlauben, oder ob dieser Vorgang vom lebenden Zustand der Zelle abhängig ist. Die erste Möglichkeit erschien schon deswegen wahrscheinlich, weil Liro in toten etiolierten Blättern Chlorophyllbildung nachgewiesen haben will. Wider Erwarten zeigte sich der Vorgang jedoch streng vom lebenden Zustand der Zelle abhängig:

Die Blätter wurden aufs Vorsichtigste durch Trocknen im Exsikkator bei Zimmertemperatur, durch Ätherisieren oder auch durch Erfrieren im Dunkeln abgetötet. Wurden solche Blätter mit Azeton extrahiert und die so erhaltene Farbstofflösung in Äther überführt, so zeigte sich in diesem das normale Protochlorophyllspektrum. Obwohl der Farbstoff demnach unversehrt geblieben war, konnte aus den abgetöteten Blättern auch nach mehrstündiger Belichtung keine Spur von Chlorophyll erhalten werden; außerdem zeigte sich das Protochlorophyllspektrum noch in der ursprünglichen Stärke, was auch insofern zu beachten ist, als Protochlorophyll in Äther oder anderen

Lösungsmitteln in derselben Belichtungszeit völlig ausbleicht; der Farbstoff genießt also im toten Zellverband eine Art Schutzwirkung.

Um den Einwand einer Hemmung der Protochlorophyllumwandlung durch irgendwelche bei der Abtötung entstehende Zersetzungsprodukte der Zelle auszuschließen, wurde in der vom Verfasser für die Isolierung von Chloroplastenmasse angegebenen Weise Leukoplastenmasse unter Lichtabschluß hergestellt, d.h. durch Zentrifugieren wäßriger Reibgemische etiolierter Blätter wurden die protochlorophyllhaltigen Farbstoffträger (Leukoplasten) isoliert; jedoch ging auch in dieser Masse das Protochlorophyll bei Belichtung nicht in Chlorophyll über.

Somit muß die Umwandlung des Protochlorophylls zu Chlorophyll trotz ihres einfachen chemischen Charakters und obwohl in Azetonlösung eine Überführung des Protochlorophylls in die Chlorophyllstufe gelingt, als vitaler Vorgang betrachtet werden.

Auf dieser Grundlage konnte nun auch auf einfache Weise das reichliche Vorkommen von Protochlorophyll in den Samenhäuten des Kürbis erklärt werden, die wie früher erwähnt, das für die chemisch-präparative Bearbeitung allein brauchbare Ausgangsmaterial darstellten. Auch hier haben Monteverde und Lubimenko irrtümliche Vorstellungen entwickelt, nachdem sie in unreifen Früchten Chlorophyll gefunden hatten und erst bei fortschreitender Reife Protochlorophyll feststellen konnten. Wie die Verhältnisse tatsächlich liegen, ergaben systematische Untersuchungen, die während des ganzen Verlaufs der Früchteentwicklung vorgenommen wurden. Der in jungen Samenhäuten etwa nachweisbare Chlorophyllgehalt ist sekundär durch die Belichtung bedingt, der die Früchte beim Öffnen ausgesetzt werden; im Dunkeln geöffnete Früchte frühen Entwicklungszustandes zeigen in den Samenhäuten nur Protochlorophyll. Schon kurz dauernde Belichtung genügt indessen, um neben dem Protochlorophyllspektrum das Spektrum des Chlorophylls in Ätherlösung in Erscheinung treten zu lassen. Monteverde und Lubimenko haben also den unmittelbar bei der Öffnung jüngerer Früchte gegebenen Zustand übersehen. Die Tatsache, daß das Öffnen reifer Früchte ohne Minderung des Protochlorophyllgehalts auch im Licht vorgenommen werden kann, ließ sich dadurch erklären, daß die protochlorophyllführenden Zellen der Samenhäute vor der Reife absterben; die

Zellen waren solange plasmolysierbar und auch deplasmolysierbar, als die Öffnung der Früchte im Licht Minderung des Protochlorophyllgehalts verbunden mit Chlorophyllbildung zur Folge hatte. Es liegen also genau dieselben Verhältnisse wie in etiolierten Blättern vor; d. h. die Kürbisfrüchte lassen schon in jungen Stadien kein Licht bis zu den Samenhäuten gelangen, so daß in diesen die angestrebte Chlorophyllbildung nur bis zur Protochlorophyllstufe vor sich gehen kann, die ihrerseits bei fortschreitender Reife auch bei Belichtung infolge des Absterbens der Zellen erhalten bleibt.

Wenn somit trotz der einfachen chemischen Beziehungen zwischen Protochlorophyll und Chlorophyll die letzte Stufe der Chlorophyllbildung in der lebenden Zelle nicht als eine Reaktion im rein physikalisch-chemischen Sinne greifbar war, so wurde trotzdem an der Hand der lebenden Zelle versucht, die Chlorophyllbildung aus Protochlorophyll näher zu kennzeichnen. Zu diesem Zweck wurden normale, im Dunkeln aufgezogene Blätter mit vitalen Oxydationsmitteln im Dunkeln behandelt. So konnte nach Behandeln der Blätter mit 0,1%igem Wasserstoffperoxyd, das in dieser Konzentration als ungiftig zu betrachten ist, nach 20 Stunden in den ätherischen Lösungen neben dem Rotband des Protochlorophylls dasjenige des Chlorophylls beobachtet werden; ebenso war dies bei 3tägiger Einwirkung eines anderen, ebenfalls ungiftigen Oxydationsmittels, des Chinons, der Fall.

Mit Phenylurethan, das als Narkotikum wohl zellschädigend, aber nicht unmittelbar oxydierend wirken kann, wurde keine Protochlorophyllumwandlung im Dunkeln erzielt. Trotzdem ist damit natürlich kein Beweis für die Kennzeichnung der Chinon- bzw. Hydroperoxydwirkung als einer unmittelbaren Reaktion mit dem Protochlorophyll gegeben. Immerhin soll bemerkt werden, daß sich in Vicia Faba ein sog. Atmungschromogen durch Chinon oder Wasserstoffperoxyd vital zu einem Pigment oxydieren, genauer gesagt, dehydrieren läßt.

Umgekehrt konnte durch Verbringung etiolierter Blätter in reinen Stickstoff die Chlorophyllbildung aus Protochlorophyll auch bei 48stündiger Belichtung fast völlig unterdrückt werden, und zwar ohne gleichzeitige Schädigung der Blätter, da diese nach der Stickstoffbehandlung in Luft zu normaler Zeit ergrünten und nach 10 Tagen noch vollkommen frisch waren.

Es liegt nahe, die Umwandlung des Protochlorophylls zu Chlorophyll als Eisenkatalyse aufzufassen, da bekanntlich eisenfrei auf-

gezogene Pflanzen auch im Licht Chlorose zeigen, d. h. nicht ergrünen. In seiner früheren Mitteilung in diesen Berichten zeigte der Verfasser in Anlehnung an O. Warburg eine Reihe von z. T. starken Störungen, die der normale Assimilationsapparat und die gesamte Pflanze durch Festlegung des im Chloroplasten vorhandenen Eisens mittels kleinster Mengen eisenabbindender Stoffe erfährt. Trotzdem gelang es nicht, durch derartige eisenabbindende Mittel (Schwefeldioxyd und Rhodanammonium) die Bildung von Chlorophyll aus Protochlorophyll als Eisenkatalyse zu kennzeichnen: keine ohne Allgemeinstörung mögliche Konzentration der genannten Eisenkomplexbildner hatte eine wesentliche Hemmung der Chlorophyllbildung aus Protochlorophyll im Licht zur Folge, obwohl die angewandten Mengen zur Hemmung des bei der Photosynthese mit größter Wahrscheinlichkeit wirksamen Chloroplasteneisens durchaus hinreichend gewesen wären.

Der Inanspruchnahme des Protochlorophylls als unmittelbarer Vorstufe des Chlorphylls steht eine gewisse Schwierigkeit insofern entgegen, als die in den Blättern im Dunkeln vorgebildete Protochlorophyllmenge so gering ist, daß sie nur zu einem kleinen Bruchteil für die bei folgender Belichtung rasch und reichlich einsetzende Chlorophyllbildung verantwortlich gemacht werden kann. Es scheint also in etiolierten Blättern zwischen dem Protochlorophyll und der nicht bekannten, weiter zurückliegenden Vorstufe eine Art Gleichgewicht zu bestehen derart, daß das Protochlorophyll bei Belichtung zur Chlorophyllbildung verbraucht wird und bei der Fortsetzung der Chlorophyllbildung die Protochlorophyllstufe so rasch durchlaufen wird, daß sie nicht irgendwie greifbar ist. Eine andere Möglichkeit wäre die, daß die Bildung der geringen Protochlorophyllmenge nur einen einmaligen Vorgang darstellt, der für die Chlorophyllbildung unter normalen Lichtverhältnissen überhaupt nicht in Betracht kommt.

Versuche mit intermittierender Belichtung zeigten jedoch, daß die Protochlorophyllbildung kein einmaliger Vorgang ist:

Dunkelkulturen von Mais, die bei Verbringen in Licht unter den gegebenen Tageslichtverhältnissen 3 Minuten zur völligen Umwandlung ihres Protochlorophylls zu Chlorophyll benötigten, wurden in mehrmaligem Wechsel 10—36 Minuten belichtet und dazwischen 10—26 Stunden im Dunkeln gehalten. Wie die folgende Tabelle zeigt, wurde das während der Belichtung verschwundene Protochlorophyll in der folgenden Dunkelperiode regelmäßig wieder ersetzt.

Belichtung nach Minuten	Verdunkelung nach Stunden	Protochl.	Chlorophyll
10	—	keines	vorhanden
—	10	schwach	„
—	im ganzen 20	neu gebildet	„
36	—	keines	„
—	24	neu gebildet	„
20	—	keines	„
—	24	neu gebildet	„
22	—	keines	„
—	26	neu gebildet	„

Damit ist erwiesen, daß sich zwischen Protochlorophyll und einer noch unbekannten Vorstufe ein Gleichgewichtszustand derart einstellt, daß die Protochlorophyllstufe, die bei normalen Lichtverhältnissen sehr rasch durchlaufen wird, nach Maßgabe ihres Verbrauchs einen Nachschub erfährt.

Im Zusammenhang damit sei nochmals die außerordentlich hohe Umwandlungsgeschwindigkeit des Protochlorophylls in der lebenden Zelle betont, die dazu führt, daß unter normalen Lichtverhältnissen noch nie Protochlorophyll im Blatt nachgewiesen werden konnte, und in einem noch zu klärenden Gegensatz zu der Tatsache steht, daß die Chlorophyllbildung aus Protochlorophyll in der lebenden Zelle noch nicht auf einfache chemisch-physikalische Verhältnisse zurückführbar ist.

c) Untersuchungen über die Chlorophyllase

Willstätter fand in grünen Blättern ein Enzym, Chlorophyllase, das aus Chlorophyll Phytol abzuspalten vermag und andererseits auch zur Synthese des Chlorophylls aus Chlorophyllid und Phytol befähigt ist. Daraus ist die Folgerung abzuleiten, daß die Chlorophyllase nicht nur beim Abbau des Chlorophylls in der lebenden Pflanze, sondern auch an dessen Aufbau beteiligt ist, weshalb dieses Enzym im Rahmen der Fragen nach der Chlorophyllbildung näher charakterisiert werden sollte[1]). Außerdem ist die Chlorophyllase nach der enzymchemischen Seite hin verhältnismäßig wenig untersucht.

---

[1]) Mayer, H. Untersuchungen über die Chlorophyllase. Planta **11**, S. 294, 1930.

Enzymchemische Untersuchungen

Die Enzyme können, wenn man von dem, einen Häminfarbstoff darstellenden, Atmungsenzym O. Warburgs und einigen andern Fällen absieht, bis jetzt mit den gewöhnlichen chemischen und physikalischen Methoden nicht angegangen werden, so daß es im großen und ganzen ihre Wirkungsweise ist, die das derzeitige Problem der Enzymforschung darstellt. Eine wichtige Eigenschaft der Enzyme ist in der p_H-Abhängigkeit ihrer Wirkung gegeben, d. h. in der Abhängigkeit vom sauren bzw. alkalischen Charakter des Reaktionsmediums in feiner Abstufung, wie sie durch Ermittlung der H-Jonenkonzentration festgelegt wird.

Diese Abhängigkeit ist bei der Chlorophyllase noch nicht untersucht worden. Da noch keine Methode ausgearbeitet ist, die es erlaubt, die Chlorophyllase auf die bei der Enzympräparation üblichen Weise zu gewinnen, wurde als Enzympräparat in Anlehnung an Willstätter zunächst Blattpulver verwandt, das von Chlorophyll befreit worden war. Dieses Präparat hinderte eine Regulierung der H-Jonenkonzentration durch Puffergemische, was in der starken Adsorptionsfähigkeit des Blattgewebes gegenüber Säuren und Basen und wohl auch in dessen starker Eigenpufferung begründet ist.

Ein für die Bestimmung der p_H-Abhängigkeit geeignetes Enzympräparat wurde in der schon früher erwähnten Chloroplastenmasse gefunden, wie sie der Verfasser aus wäßrigen Blattreibgemischen durch wiederholtes Zentrifugieren und Auswaschen, wenn auch in destruiertem Zustande, abtrennen und reinigen konnte. Nach Entfernung der Plastidenfarbstoffe mit Azeton dienten die so hergestellten Sedimente unmittelbar als Enzympräparate. Die Ausbeute betrug z. B. bei Verwendung von 500 g frischer Blätter von Heracleum 15 g Enzympräparat, das natürlich das Enzym selbst nur in kleinsten Mengen enthielt.

Die tatsächlich vorhandene gute Wirksamkeit dieser Präparate läßt nebenbei den Schluß zu, daß die Chlorophyllase in den Assimilationsorganen selbst, d. h. in den Chloroplasten, lokalisiert ist.

0,5 g eines Präparates wurden mit 2 ccm der betreffenden Pufferlösung und 4 ccm wasserfreiem Azeton versetzt, in dem zuvor 4 mg reines Chlorophyll gelöst worden waren. Nachdem an einem Kubikzentimeter der Lösung der p_H-Wert elektrometrisch bestimmt worden war, wurde die Mischung 8 Stunden lang im Thermostaten bei 25°

geschüttelt. Hierauf wurde das Farbstoffgemisch auf die gewöhnliche Weise aufgearbeitet, das Spaltprodukt ins Chlorophyllinsalz überführt und kolorimetrisch mit dem nicht angegriffenen Farbstoffrest verglichen, der zu diesem Zweck mittels künstlicher Verseifung mit methylalkoholischer Kalilauge ebenfalls ins Chlorophyllinsalz umgewandelt worden war. Damit konnte der enzymatische Umsatz, d. h. die von Willstätter eingeführte Umwandlungszahl u bestimmt werden, die angibt, wieviel Prozente des anfänglich vorhandenen Chlorophylls durch die Enzymwirkung gespalten worden sind:

I. Für die Mischung von Chlorophyll a und b ergaben sich folgende Werte:

p_H	u	p_H	u	p_H	u	p_H	u	p_H	u
1,4	5	4,6	58	5,9	81	6,8	65	8,9	8
2,1	10	5,4	76	6,0	80	7,0	54	9,9	7
3,2	24	5,7	80	6,1	79	7,7	40	11,2	6
4,0	44	5,8	80	6,4	75	8,3	11	12,1	5

II. Für Chlorophyll a und b getrennt:

Chlorophyll a				Chlorophyll b			
p_H	u	p_H	u	p_H	u	p_H	u
0,5	0	7,2	55	1,6	1	6,6	45
3,0	8	7,4	52	1,7	1	7,4	24
3,8	25	8,4	43	3,8	7	8,4	14
4,1	31	8,5	42	4,8	22	9,1	12
4,5	39	9,0	39	5,4	36	10,0	11
5,4	57	10,2	33	5,6	41	11,2	11
5,7	63	11,1	26	6,2	50	12,0	10
6,2	67	12,0	23				
6,4	64						

Das p_H-Optimum liegt also für das Gemisch a + b bei 5,9; für die einzelnen Komponenten ergab sich gleichermaßen der Optimalwert zu 6,2. Dieser geringe Unterschied ist vermutlich nicht reell, da bei Bestimmung der Enzymwirkung auf das Gemisch a + b in der Optimalregion mehr Punkte als bei den beiden anderen Versuchen festgelegt wurden. Was die absolute Höhe der Umwandlungszahl betrifft, so kann I mit II nicht verglichen werden, da im ersten Fall

4 mg Chlorophyll a+b, im zweiten jeweils 4 mg Chlorophyll a oder b vorlagen und vor allem weil für I und II zwei verschiedene Enzympräparate angewandt wurden. Dagegen sind die beiden Versuche in II unter sich absolut vergleichbar und ergaben starke Unterschiede in der Angreifbarkeit der beiden Chlorophyllmodifikationen.

Dieser wichtige Punkt wurde in besonderen Reihen genauer untersucht, in denen die acht der Chlorophyllasewirkung zugänglichen Präparate, nämlich die a und b-Modifikationen des Chlorophylls und des Phäophytins zugleich mit ihren allomerisierten Formen der Enzymwirkung ausgesetzt wurden. Hierbei ergaben sich folgende Verhältnisse:

4 mg Substrat in 6 ccm 66%igem Aceton, 0,5 g extrahiertes Blattmehl von Heracleum. 1 Stunde 25°.

Enzymsubstrat	a+b u	a u	b u	HQ $\frac{a}{b}$
Chlorophyll	70	78	43	1,81
Phäophytin	69	80	45	1,78
Allomeres Chlorophyll	15	16	9	1,78
Allomeres Phäophytin	15	18	10	1,80

Zusammenfassend ergibt sich: Chlorophyll und Phäophytin verhalten sich gegenüber Chlorophyllase gleich, und zwar so, daß die Komponente a eine bedeutend größere Umsatzgeschwindigkeit als die Komponente b besitzt. Dieselben Verhältnisse finden sich bei den allomeren Formen, die im ganzen jedoch eine bedeutend geringere Umsetzungsgeschwindigkeit aufweisen. Besonders interessant ist die Tatsache, daß der hydrolytische Quotient aus den Umsatzwerten der isolierten Komponenten (bezeichnet mit HQ $\frac{a}{b}$) in allen Fällen konstant ist (vgl. letzte Spalte der obigen Tabelle), wobei besonders darauf hinzuweisen ist, daß die isolierten Komponenten jeweils in der gleichen Konzentration vorlagen.

Damit ist also eine weitgehende, gesetzmäßig erfaßbare Spezifizität der Chlorophyllase gegenüber den verschiedenen Farbstoffderivaten erwiesen, wobei jedoch das Fehlen oder Vorhandensein des Magnesiums keine Rolle spielt. Auffallend ist die geringe enzymatische Hydrolysierungsgeschwindigkeit der beiden allomeren Formen. Nach den neueren Untersuchungen von Conant und H. Fischer beruht die Allomerisation auf der Entfernung von zwei H-Atomen. Andrerseits

bedingt die in der Chlorophyll b-Reihe gegebene Einführung eines weiteren O-Atoms eine geringere, immerhin nicht unbeträchtliche Minderung der enzymatischen Angreifbarkeit.

Zu erwähnen ist noch, daß zur Festlegung des enzymatischen Charakters der Chlorophyllspaltung bei allen Versuchen zur Kontrolle kurze Zeit auf 100° erhitzte Enzympräparate zur Verwendung kamen, die jedoch nicht die geringste hydrolytische Farbstoffspaltung ergaben.

Eine weitere Charakterisierung der Chlorophyllase ist auf Grund ihres Verhaltens gegenüber Elektrolyten möglich. Willstätter fand, daß Enzympräparate, die durch Auswaschen elektrolytfrei gemacht worden waren, ihre Wirksamkeit völlig einbüßten, jedoch durch Zusatz von $CaCl_2$ reaktiviert werden konnten.

Diese Erscheinung wurde unter Heranziehung zahlreicher Elektrolyte weiter verfolgt. Allerdings konnte auch durch gründliches Auswaschen keine völlige Aufhebung der enzymatischen Wirksamkeit, wohl aber eine beträchtliche Hemmung erzielt werden, die, wie folgende Tabelle zeigt, durch Zusatz verschiedener Elektrolyte stark beeinflußt werden konnte.

0,5 g Enzympräparat, 2 ccm Pufferlösung, 4 mg Chlorophyll, 4 ccm wasserfreies Aceton. 1 Stunde, 25°.

Salzzusatz in 0,1 mol. Lösung	Reihe 1 *u*	Reihe 2 *u*	Reihe 3 *u*
Ohne Salz	46	36	30
LiCl	66	58	61
NaCl	65	53	59
KCl	67	45	57
KCN	0	—	0
$KMnO_4$	59	—	51
NH_4Cl	56	50	—
NH_4NO_3	—	48	—
$(NH_4COO)_2$	—	38	—
$CaCl_2$	60	45	51
$Ca(NO_3)_2$	—	38	—
$BaCl_2$	57	44	—
$MgCl_2$	51	—	48
$MgSO_4$	—	42	—
$ZnSO_4$	—	41	38
$CuSO_4$	32	—	19
Ferro-Lactat	54	—	48
Ferro Ammonzitrat	—	—	45

Am günstigsten wirken demnach die Alkalichloride, weniger wirksam sind Erdalkali- und Magnesiumsalze. Kupfer wirkt hemmend. Interessant ist die völlige Aufhebung der enzymatischen Wirkung durch Kaliumzyanid, die jedoch nur bei elektrolytarmen Enzympräparaten auftrat, während nicht ausgewaschenes Blattpulver durch Zyanid in keiner Weise beeinflußt wurde. Dies erklärt sich wohl mit komplexer Abbindung des Kaliumzyanids durch die nicht ausgewaschenen Elektrolyte.

Die Wärmeempfindlichkeit der Chlorophyllase, auf die schon Willstätter ohne genaue Angaben hingewiesen hat, ist ziemlich beträchtlich. Eine Vorerwärmung auf 60° während 10 Minuten genügte schon, um die Umsatzzahl auf 49 herabzusetzen, wenn sie bei demselben Präparat bei einer Erwärmung auf 30, 40, 50° zu 84—85 gefunden wurde; bei Einwirkung einer Temperatur von 80° während 10 Minuten sank die Umsatzzahl auf 31.

Biologische Untersuchungen

Diese dienten vornehmlich dem Zweck, einen weiteren Überblick über die Verbreitung des Enzyms zu erhalten, als es bis jetzt durch die Untersuchungen Willstätters, der nur wenige zahlenmäßige Befunde mitteilt, möglich ist; außerdem sollte der Enzymgehalt in Beziehung zum biologischen Chlorophyllaufbau und -abbau gesetzt werden.

Zunächst wurden im Mai die ausgewachsenen Blätter von 59 beliebigen Pflanzen, teils einheimischen, teils tropischen usw., untersucht. Die getrockneten und pulverisierten Blätter kamen unmittelbar zur Verwendung, wobei als Enzymsubstrat ihr eigenes Chlorophyll diente:

0,5 g Blattpulver wurde zunächst während 5 Minuten mit 4 ccm wasserfreiem Azeton geschüttelt, hierauf mit 2 ccm Wasser versehen und 1 Stunde lang im Thermostaten bei 25° geschüttelt.

Maximaler Chlorophyllasegehalt wurde in Übereinstimmung mit Willstätter bei Umbelliferen gefunden unter denen nur Daucus Carota eine Ausnahme machte. Sehr geringer Enzymgehalt wurde, ebenfalls in Übereinstimmung mit Willstätter, bei Gras, Platane und Brennessel gefunden, außerdem bei allen untersuchten Monokotylen. Im übrigen ergab sich keine eindeutige Beziehung zur systematischen oder ökologischen Gruppierung.

Blattpulver aus	u	Blattpulver aus	u	Blattpulver aus	u
Selaginella Kraussiana	3	Robinia pseudacacia	18	Salvia officinalis	36
Aspidium filix mas	26	Tilia platyphyllos	46	Salvia verticillata	31
Ginkgo biloba	3	Dombeya Wallichii	8	Ballota nigra	30
Platanus orientalis	4	Rhus typhina	24	Brunella vulgaris	29
Spinacia oleracea	24	Acer campestre	38	Nepeta grandiflora	22
Rheum rhaponticum	16	Aesculus hippocastanum	41	Betonica officinalis	20
Rumex acetosa	4	Sparmannia africana	27	Datura Stramonium	86
Amarantus retroflexus	72	Hedera Helix	12	Nicotiana tomentosa	20
Ficus Cannonii	6	Heracleum Sphondylium	90	Digitalis purpurea	36
Cannabis sativa	27	Myrrhis odorata	88	Cucurbita Pepo	2
Urtica urens	8	Anthriscus silvestris	82	Taraxacum officinale	11
Carpinus betulus	6	Chaerophyllum aureum	80	Dahlia variabilis	79
Corylus avellana	17	Archangelica officinalis	75	Arum maculatum	12
Chelidonium maius	18	Levisticum officinale	65	Scilla bifolia	10
Viola odorata	19	Daucus Carota	11	Gras	3
Potentilla recta	44	Cynoglossum officinale	26	Avena sativa	2
Lupinus polyphyllus	40	Lamium album	83	Zea Mays	4
Phaseolus vulgaris	8	Galeopsis Tetrahit	81	Hemerocallis fulva	6
Vicia Faba	12	Stachys silvatica	80	Musa sapientium	4
Pisum sativum	19	Satureja vulgaris	45		

Um Sicherheit darüber zu gewinnen, daß nicht etwa Unterschiede in den p_H-Werten das Bild trüben, wurde eine Anzahl von Arten herausgegriffen und ihr Chlorophyllase-Gehalt unter Verwendung der oben beschriebenen Chloroplastenmasse als Enzymmaterial untersucht, so daß mittelst Pufferlösungen der optimale p_H-Wert = ca 6 eingestellt werden konnte. Die Ergebnisse wurden hierdurch nicht verändert; lediglich die säurereichen Blätter von Rheum rhaponticum zeigten, nach dieser Methode untersucht, eine etwa höhere Umsatzgeschwindigkeit als ohne Pufferung der Chloroplastenmasse.

5 ccm Chloroplastenaufschwemmung, 10 ccm wasserfreies Aceton. 4 Stunden 24°.

Chloroplastenmasse von:	Hauptversuch mit Pufferung		Kontrollversuch ohne Pufferung	
	p_H	u	p_H	u
Rheum rhaponticum	6,4	17	4,3	13
Zea Mays	5,9	3	5,6	3
Platanus orientalis	5,9	5	5,3	5
Urtica urens	6,6	7	7,7	6
Lamium album	6,0	46	6,6	44
Datura Stramonium	6,0	51	6,0	52
Heracleum Sphondylium	6,0	46	5,9	46

Andererseits ließen sich deutliche Beziehungen zwischen Chlorophyllasegehalt und der jahreszeitlichen Blattentwicklung nachweisen. Ausgewachsene Blätter von 19 verschiedenen einheimischen Arten wurden im Mai, Juli und September, z. T. auch im November auf ihren Chlorophyllasegehalt geprüft, wobei fast durchweg eine starke Minderung des Enzymgehalts im Juli festzustellen war. Einige Beispiele mögen folgen:

Blattpulver von:	Mai *u*	Juli *u*	Sept. *u*	Nov. *u*
Chelidonium maius	18	7	16	—
Potentilla recta	44	19	38	—
Tilia platyphyllos	46	8	34	—
Acer campestre	38	22	32	26
Hedera Helix	12	3	10	9
Heracleum Sphondylium	90	30	78	72
Myrrhis odorata	88	42	76	—
Levisticum officinale	65	11	62	—
Lamium album	83	33	74	65
Betonica officinalis	20	8	22	—

Von Arten mit nur geringen oder keinen jahreszeitlichen Unterschieden im Enzymgehalt wurden nur drei festgestellt: Viola odorata und die beiden Labiaten Brunella vulgaris und Nepeta grandiflora.

Die an der Mehrzahl der untersuchten Pflanzen erhobenen Befunde können unschwer mit der Funktion der Chlorophyllase in Einklang gebracht werden, insofern als die Enzymanreicherung im Frühjahr zur Chlorophyllbildung, diejenige im Herbst zum Abbau des Blattfarbstoffs in Beziehung gebracht werden kann.

Wurden verschieden alte Blätter derselben Pflanze zur gleichen Jahreszeit untersucht, so ergab sich bei ganz jungen Blättern ein weit geringerer Enzymgehalt als bei älteren Blättern. Während der Blattvergilbung fand in allen untersuchten Fällen eine starke Enzymabnahme statt.

Demnach scheint der Gehalt an Chlorophyllase ceteris paribus stark vom vitalen Zustand der Zelle abzuhängen, was sich auch dadurch belegen läßt, daß verdunkelt aufgezogene Blätter beträchtlich weniger Enzym enthalten als die Lichtkontrollen und zwar so, daß pro Tag halbstündig schwach belichtete Dunkelkulturen sich im Enzymgehalt stark den Lichtkontrollen näherten, ohne dabei sichtbar ergrünt zu sein.

Bemerkenswert ist ferner, daß die weißen Teile panaschierter Blätter von Hemerocallis fulva und Panicum variegatum ebenfalls Chlorophyllase enthalten und zwar um 50% weniger als die benachbarten grünen Spreitenteile. Ebenso konnte in Wurzeln von Lamium und Heracleum Chlorophyllase nachgewiesen werden, wobei zu bemerken ist, daß Wurzeln im Licht zu ergrünen vermögen. In den Wurzeln von Daucus Carota wurde dagegen keine Chlorophyllase gefunden, was wohl mit dem geringen Enzymgehalt der Blätter dieser Pflanze zusammenhängt, die sich in diesem Punkt von allen andern untersuchten Umbelliferen stark unterscheidet.

d) Über die verschiedene Stabilität von Chlorophyll a und Chlorophyll b beim biologischen Chlorophyllabbau

Eine große Bedeutung muß dem quantitativen Verhältnis zwischen den beiden Chlorophyllmodifikationen a und b, von Willstätter als Q^{a}_{b} bezeichnet, zugeschrieben werden. Dieses Verhältnis, dessen Beziehung zur Photosynthese noch unklar ist, erweist sich nach Willstätter gegenüber experimentellen Eingriffen, wie Überlastung des Assimilationsapparates, konstant, liegt im allgemeinen zwischen 2 und 3, und zeigt auch im Frühjahr und Herbst keine wesentlichen Änderungen. Im Abschnitt I wurde auseinandergesetzt, daß infolge Fehlens zweier Protochlorophyllmodifikationen die Bildung der sauerstoffreicheren b-Modifikation über das Chlorophyll a erfolgen muß. Die Art wie diese Oxydation erfolgen muß, läßt eine größere Labilität der b-Modifikation vermuten, die sich auch aus manchen chemischen Erfahrungen ableiten läßt.

Im folgenden soll über einige Versuche berichtet werden, die diese größere Empfindlichkeit des Chlorophyll b auch unter biologischen Verhältnissen beleuchten und die Möglichkeit einer Relativverminderung der b-Modifikation darlegen, wie sie in diesem Maß bisher nicht bekannt geworden ist[1]). Solche Fälle konnten in Organen beobachtet werden, in denen der Chlorophyllabbau dem Absterben beträchtlich voraneilt, und außerdem in den chlorotischen Blättern einer Ulme (Ulmus montana).

Die quantitative Bestimmung der beiden Modifikationen wurde teils nach der Methode von Willstätter ausgeführt, die in der Darstellung des Phytochlorins e aus Chlorophyll a und Phytorhodins g

[1]) Scharfnagel, W. (zit. a. S. 82).

aus der b-Modifikation und deren kolorimetrischem Vergleich besteht, teils wurde auch mit einigen Änderungen die neuere Methode von Guthrie angewandt, bei der die beiden Komponenten als Methylphäophorbide kolorimetrisch bestimmt werden. Die letztgenannte Methode hat gewisse Vorteile bei herbstlichem Material, das reich an Gerbstoffen, Lipoiden und Fetten ist und liefert, wie zahlreiche Kontrollbestimmungen ergaben, dieselben Werte wie die Willstättersche Methode.

Bei reifenden Bananenschalen wurden folgende Werte ermittelt:

	$Q_{\frac{a}{b}}$
ganz grün	2,4
gelbgrün	11,2
rein gelb	15

Ebenso zeigten die Hochblätter der Linde (Tilia parvifolia), die lange vor der Laubvergilbung ihr Chlorophyll verlieren, diese Verschiebung:

	$Q_{\frac{a}{b}}$
19. Juni grün	2,7
2. Juli gelbgrün	4
3. Juli "	4,2
15. Juli rein gelb	15

Geringere Veränderungen wurden bei Birnenhäuten einer und derselben Sorte festgestellt:

	$Q_{\frac{a}{b}}$
10. Juli grün, unreif	2,4
21. Juli grün, reif	8

Bei chlorotischen Ulmenblättern, die mit panaschierten und normal grünen desselben Baumes verglichen werden konnten, zeigte sich folgendes:

	$Q_{\frac{a}{b}}$
I. Chlorotische Blätter:	
10. Juni	13
10. Juli	18
II. Panaschierte Blätter:	
17. September	5
III. Normale Blätter:	
2. September	3,1

Während der herbstlichen Vergilbung konnte dagegen in 18 untersuchten Fällen in Übereinstimmung mit Willstätter keine Erhöhung des

Quotienten festgestellt werden; lediglich die Blätter der Roßkastanie zeigten im September und Oktober eine Erhöhung auf 4,3 bis 4,5.

Im Grundsatz ist jedenfalls gezeigt, daß sich auch unter biologischen Verhältnissen die b-Modifikation labiler als die a-Modifikation erweisen kann.

Anhangsweise mag bemerkt werden, daß unter besonderen Verhältnissen das Chlorophyll und auch die Carotinoide eine erstaunliche Stabilität aufweisen können. Der Verfasser konnte zusammen mit Weigelt[1]) aus Blättern in der mitteleozänen Braunkohle des Geiseltals bei Halle (Saale) nichtreduzierte Chlorophyllderivate gewinnen, die ein ausgezeichnetes, jedoch mit keinem der bekannten Derivate übereinstimmendes Spektrum besitzen und in diesen Blättern in einer Menge erhalten sind, die die Festlegung einiger chemischer Eigenschaften erlaubte. Es handelt sich um eine oder zwei magnesium- und phytolfreie Karbonsäuren in anhydrisierter Form, wobei infolge einer Verdopplung des Rotbandes die Möglichkeit des Erhaltenseins auch der b-Modifikation gegeben ist.

Außerdem wurde nach Entfernung des grünen Farbstoffes mittelst Verseifung ein Spektrum erhalten, das mit dem der Carotinoide im wesentlichen übereinstimmt.

Licht- und Sauerstoffabschluß während des Absterbens der Blätter müssen als Ursache für die Konservierung dieser Farbstoffe angesprochen werden, deren Bildung vor mindestens 10 Millionen Jahren erfolgt ist.

Schlußbemerkung

Die mitgeteilten Untersuchungen beziehen sich nicht auf die im wesentlichen noch ungeklärte Frage der Funktion der Plastidenfarbstoffe bei der Photosynthese, jenem das gesamte Leben auf der Erde primär wichtigen Vorgang. Jedoch scheint es, als ob zwischen der Bildung des Chlorophylls aus Protochlorophyll und der Photosynthese gewisse Analogien bestehen, indem der Verfasser in früheren Arbeiten (vgl. Heft 8 dieser Berichte) die Beziehung der Fluoreszenz des Chloro-

---

[1]) Weigelt, J. und Noack, K. in „Die Wirbeltierfundstellen im Geiseltal". Kais. Leop. Deutsch. Akad. d. Naturforsch. Halle 1931.

phylls zu dessen Leistung hervorhob und diese wohl auch für die Bildung der beiden Chlorophyllmodifikationen aus dem Protochlorophyll in Frage kommt, da auch hier ein photochemisch bedingter Wechsel in der Oxydationsstufe mitspielt, dessen enge Beziehung zur Fluoreszenz des Chlorophylls vom Verfasser früher nachgewiesen und von Kautsky[1]) weiter verfolgt wurde.

Die Untersuchungen werden in dem durch die bisherigen Befunde gegebenen Rahmen fortgesetzt.

B. Über „Bakteriochlorophyll"

Unter den Bakterien befinden sich einige Gruppen, die im Gegensatz zu den übrigen Bakterien und zu den anderen chlorophyllfreien Pflanzen organische Substanz aus Kohlendioxyd erzeugen, also kohlenstoffautotroph wie sämtliche grüne Pflanzen sind. Ein Teil dieser Bakterien gewinnt die Energie zur CO_2-Reduktion durch innere oxydative Prozesse anorganischer Art (Chemosynthese), während ein anderer Teil, wie nach den neuesten Untersuchungen von van Niel und Muller (1931, 1933) als bewiesen erachtet werden kann, die Lichtenergie ausnützt, also photosynthetisch arbeitet und daher farbstoffführend ist. Diese Farbstoffe sind in genuiner Form wohl von blauvioletter Farbe, die leicht in grün umschlägt (siehe später) und können bei einer Gruppe, den Purpurbakterien, durch reichlich vorhandene Carotinoide verdeckt sein. Über ihre Konstitution ist noch nichts bekannt; lediglich ihre spektralen Eigenschaften sind bislang untersucht, so besonders durch Buder (1919) beim Farbstoff der Purpurbakterien und zwar der Untergruppe der (schwefelfreien) Athiorhodaceen, deren photosynthetische Eigenschaft soeben durch Gaffron[2]) sehr wahrscheinlich gemacht wurde.

Die chemische Bearbeitung dieses Farbstoffes erschien nicht aussichtslos, da eine Voruntersuchung die Überführbarkeit des genuinen Farbstoffs in Porphyrine ergab und damit eine Beziehung zum Chlorophyll gegeben war, obwohl der Bakterienfarbstoff vom Chlorophyll in den spektralen Eigenschaften stark abweicht (siehe später). Die Untersuchung wird von Herrn Dr. E. Schneider-Breslau in

[1]) Vgl. z. B. Kautsky, H., Ber. Deutsch. Chem. Ges. **65**, S. 1762, 1932.

[2]) Gaffron, H., Biochem. Ztschr. **260**, S. 1. 1933.

meinem Institut ausgeführt, nachdem er sein früheres Verfahren zur Gewinnung von Massenkulturen der S-freien Purpurbakterien[1]) dadurch vereinfacht hatte, daß die Kulturen unter dem hier unwesentlichen Verzicht auf Reinkultur nicht unter Sauerstoffabschluß aufgezogen werden. An Purpurbakterien, die sich in der mit Glyzerin und Pepton versetzten Nährlösung reichlich entwickeln, ist nur eine Art, vermutlich ein Rhodovibrio, vorhanden. Wöchentlich werden 50 Kulturkolben zu je 500 ccm verarbeitet, die 5 Wochen im „Lichtthermostaten" bebrütet worden sind.

Nach Isolierung der Bakterien durch Filtrieren oder Abzentrifugieren wird ihr Farbstoffgemisch auf der Schüttelmaschine mit 82%igem Azeton ausgezogen, der Extrakt mit Petroläther versetzt und der Farbstoff durch Auswaschen zur Fällung gebracht. Seine Reinigung wird durch wiederholtes Lösen in Äther und Ausfällen mit leichtsiedendem Petroläther bewirkt. Ausbeute aus 50 Kulturen = ca. 700 mg. Das Verfahren entspricht also der Chlorophylldarstellung nach Willstätter, allerdings unter Vermeidung von Methanol, das den vorliegenden Farbstoff vielleicht verändert.

Das so gewonnene Präparat löst sich sehr leicht in Äther (violett), leicht in Methyl- und Äthylalkohol (grün), schlecht in Ameisensäure (stahlblau) und fluoresziert kräftig rot. Das Spektrum ist sehr einfach:

Spektrum in Äther: 595—550; 531 — (Endabsorption)
Spektrum in Methanol: 610—578; 540 — („).

Dazu kommen noch die hier zunächst unwesentlichen Absorptionsbanden im Ultrarot (vgl. Buder 1919). Die Substanz kristallisiert nicht und wurde daher bis jetzt nicht analysenrein dargestellt. Sie sintert bei 150° unter Zersetzung; das Zersetzungsprodukt schmilzt bei 178°.

Wie das Chlorophyll enthält der Farbstoff Magnesium, das qualitativ mit Tetraoxyanthrachinon festgestellt wurde und mit Salzsäure leicht abgespalten wird. Hierbei entsteht ein in Äther olivgrüner, rotfluoreszierender Farbstoff, dessen Spektrum starke Analogie zu dem des Phäophytins zeigt.

---

[1]) Schneider, E., Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 18, S. 81, 1930.

Spektrum in Äther:

I. 699—660; II. 631—612; III. 571 (SP.); IV. 538—505; V. 494—481; 465... (Endabs.). Reihenfolge der Intensität: I, IV, V, II, III.

Auch der Basizität nach entspricht der Farbstoff annähernd dem Phäophytin: 22%ige Salzsäure wird von der ätherischen Lösung angefärbt; 24%ige Salzsäure nimmt den Farbstoff reichlich auf.

Der Farbstoff läßt sich mit Alkohol oder Petroläther aus konzentierter Ätherlösung fällen, kristallisiert jedoch ebenfalls nicht. Seine Kupferverbindung fluoreszierte nicht und zeigt dasselbe spektrale Verhalten wie die magnesiumfreie Ausgangssubstanz, so daß auch in diesen beiden Punkten eine Analogie mit dem Chlorophyll gegeben ist.

Entsprechend dem Chlorophyll stellt der Farbstoff ein Gemisch von zwei Komponenten dar, von denen jedoch im Gegensatz zum Chlorophyll die eine weitaus im Überschuß vorhanden ist, so daß der Wert der Elementaranalyse[1]) des Gemisches auf die Hauptkomponente bezogen werden darf:

$C_{55}H_{70}O_6N_4Mg \cdot 1\ H_2O$

ber. 71,35% C, 7,84% H, 6,06% N, 2,64% Mg, 3,36% OCH_3;
(mit 1 OCH_3-Gruppe)

gef.	71,42% C,	7,83% H,	5,75% N,	2,04% Mg,	4,22% OCH_3
	71,44% C,	7,90% H,	—	2,43% Mg,	—
				2,43% Mg	
				2,71% Mg	

Die Formel stimmt am besten mit der Bruttoformel des Chlorophylls b überein unter der Voraussetzung, daß eine beim Chlorophyll b nicht vorhandene Anlagerung von einem Molekül H_2O angenommen wird. Die älteren Analysen des Chlorophylls a von Willstätter und Stoll, die Stoll vor kurzem wieder bestätigt hat, zeigen, daß vom Chlorophyll a und seinen Derivaten $^1/_2$ Molekül H_2O hartnäckig festgehalten wird. Jedenfalls liegt kein Körper der a-Reihe vor, wie sich dies vor allem aus den weiter unten anzuführenden Analysen von Abbauprodukten ergibt. Die Hauptbedeutung der Analysenwerte liegt in der Feststellung eines Magnesiumgehaltes in

[1]) Sämtliche Analysen wurden von Herrn Dr. Schöller in Berlin ausgeführt.

einem dem Chlorophyll entsprechenden Betrag wie auch darin, daß die Gegenwart von Phytol, bzw. von einem diesem im Molekulargewicht nahestehenden Körper anzunehmen ist (s. a. später); außerdem ist die Methoxylgruppe des Chlorophylls vorhanden.

Eigenartig ist das Verhalten des Farbstoffs in verschiedenen neutralen Lösungsmitteln, in denen die Farbe entweder grün oder violett ist. Die Erscheinung geht parallel mit der Dielektrizitätskonstante der Lösungsmittel, wie das in ähnlicher Weise z. B. vom Nachtblau bekannt ist. In Lösungsmitteln mit hoher Dielektrizitätskonstante (Alkohole, Essigsäureanhydrid u. a.) ist der Farbstoff grün und fluoresziert nicht; in Lösungsmitteln mit einer Dielektrizitätskonstante unter ca. 15 (Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff u. a.) ist der Farbstoff violett mit starker Rotfluoreszenz.

Besonderes Verhalten zeigt der Farbstoff auch gegen Wasserstoffperoxyd, Benzolperoxyd, Kaliumpermanganat und Jod; alle diese Oxydationsmittel bewirken in entsprechenden Lösungsmitteln einen Farbumschlag von violett nach grün, wobei der Spektraltyp sich völlig ändert und ein dem Chlorophyll entsprechendes Rotband unter Verschwinden der ursprünglichen Bande bei der D-Linie auftritt. Längeres Durchleiten von Luft bewirkt dieselbe Änderung. Durch reduzierende Mittel (z. B. Ferrosulfat und Hydrazin) wird die Reaktion rückgängig gemacht, worauf neue Oxydation möglich ist; jedoch zeigt die Erscheinung in Einzelheiten noch gewisse Komplikationen, die noch näher zu bearbeiten sind.

Trotz der einfachen spektralen Verhältnisse des genuinen Farbstoffs muß dieser, entsprechend den Verhältnissen beim Chlorophyll, in zwei Modifikationen vorliegen. Diese wurden bei Abbauversuchen gefaßt, die auf Gewinnung einer den Chlorophyll-Phäophorbiden gleichwertigen Stufe abzielten. Hierzu wurde ein von Stoll[1]) kürzlich beschriebenes, unmittelbares Verfahren zur Phäophorbidgewinnung mit entsprechenden Abänderungen angewandt: Überführen des genuinen Farbstoffs aus dem Azeton-Rohextrakt in Äther, kalte Verseifung mit konz. Salzsäure, Fraktionierung mit Salzsäure. Es ergab sich viel Substanz, die gemäß ihrer geringeren Basizität (geht in 23%ige Salzsäure) als „b-Modifikation" anzusprechen ist, während nur wenig „a-Modifikation" (geht in 16%ige Salzsäure) vorhanden war.

[1]) Stoll, A. und Wiedemann, E., Helv. Chim. Acta **16**, S. 183, 1933.

Bei der Herstellung der beiden Farbstoffe aus gereinigtem Ausgangsmaterial ergab die Verseifung ein öliges Nebenprodukt. Ob es sich hierbei um Phytol handelt, muß noch geprüft werden. Immerhin kann mit Vorbehalt von Bakteriochlorophyll, Bakteriophäophytin und Bakteriophäophorbid gesprochen werden. Die alte Bezeichnung für den genuinen Farbstoff, Bakteriochlorin, muß jetzt verlassen werden, da ja die Bezeichnung Chlorin unter den Phäophorbiden stehende Chlorophyllabbauprodukte umfaßt.

Im Gegensatz zu der Phäophytinstufe sind die beiden Verseifungsprodukte entsprechend den Phäophorbiden aus Chlorophyll in n/100 Kalilauge löslich. In Äther sind sie schwer löslich mit rotbrauner (a-Modifikation) bzw. violett tingierender grüner Farbe (b-Modifikation).

50 Kulturen lieferten 1,15 g Kristallisat des Bakteriophäophorbid-Gemisches. Die nur in geringer Menge vorhandene a-Modifikation ist noch nicht analysenrein dargestellt, wohl aber die gut kristallisierende b-Modifikation. Die bisher vorliegenden Analysen stimmen am besten auf ein Halbhydrat von der Bruttozusammensetzung des Phäophorbid b aus Chlorophyll: $C_{35}H_{38}O_6N_4 \cdot {}^1/_2 H_2O$ mit 1 OCH_3 (ber. 67,82% C; gef. 67,92; 67,88; 67,96% C). Spektrum der Modifikationen a und b in Äther:

a) I. 702—661; II. 630—611; III. 563—539; IV. 521—510.
I, III, IV, II.

b) I. 687—655; II. 627—607; III. 573 (SP.); IV. 544—509; V. 500—485; VI. 465—451. IV, I, V, VI = II, III.

Das Gemisch der beiden Phäophorbide ist spektral identisch mit dem Gemisch der beiden Phäophytine (siehe oben).

Die Möglichkeit, daß bei der Behandlung des genuinen Rohfarbstoffs zwei Produkte erst auf sekundärem Wege entstehen und somit die Ausgangssubstanz einheitlich wäre, ist aus folgenden Gründen sehr unwahrscheinlich: Das von Willstätter zur Trennung von Chlorophyll a und b ausgearbeitete Verfahren (Abtrennung der b-Komponente aus Petroläther mit Methanol) liefert in Anwendung auf das Bakteriochlorophyll ebenfalls zwei Körper; nämlich in guter Ausbeute einen in Methanol gehenden Farbstoff, der also dem Chlorophyll b entspricht, und geringe Mengen eines in Petroläther bleibenden, dem Chlorophyll a entsprechenden Körpers. Wegen der

oben angeführten Farbveränderung des Chlorophylls in Gegenwart von Alkohol ist jedoch diese Erscheinung zunächst noch nicht streng beweisend.

Heiße alkalische Verseifung ergab ein Abbauprodukt, das mit der Salzsäurezahl = ca. 10 eine geringe Basizität besitzt und also wohl ein Rhodin, d. h. ein Abbauprodukt der b-Reihe darstellt. Ein der a-Reihe zuzuordnendes Chlorin ist bisher offenbar übersehen worden, was sich mit der relativ geringen Menge an mutmaßlicher a-Modifikation in Einklang bringen läßt. Die Rhodinstufe löst sich wenig in Äther mit gelbgrüner Farbe und läßt sich daraus mit sekundärem Natriumphosphat extrahieren, färbt 8%ige Salzsäure an und geht quantitativ in 15%ige. Die genaue Untersuchung steht noch aus.

Nähere Bearbeitung haben dagegen die aus dem Bakteriochlorophyll erzielbaren Porphyrine erfahren.

Behandlung mit Eisessig-Jodwasserstoff liefert ein Porphyringemisch, das dem Phylloerythrin spektral sehr nahe steht, jedoch noch nicht weiter bearbeitet wurde. Behandlung mit Eisen und Ameisensäure in der Kälte führt über Zwischenkörper von den spektralen Eigenschaften des Protophäophytins zu einem Gemisch, das in der Hauptsache zwei Porphyrine enthält. Als Hauptprodukt entsteht ein Porphyrin mit der Salzsäurezahl 9, das quantitativ von 12%iger Salzsäure aufgenommen wird; daneben entsteht ein zweites mit der Salzsäurezahl 5, das quantitativ in 7%ige Salzsäure geht. Beide haben Spektra vom Phäoporphyrintyp und kristallisieren. Das stärker basische Porphyrin (Salzsäurezahl 5) läßt sich mit sekundärem Phosphat aus Äther mit rotbrauner Farbe extrahieren, ist also eine freie Säure. Die Analysenwerte stimmen auf die Formel: $C_{33}H_{33}N_4O_6$ (ber. 68,13% C, gef. 68,13% C); Methoxylgruppen sind keine vorhanden. Das schwächer basische Porphyrin (Salzsäurezahl 9) flockt in sekundärem Phosphat mit grüner Farbe aus und hat die Zusammensetzung $C_{34}H_{35}N_4O_6$ (ber. 68,54% C, gef. 68,54% C) mit einer Methoxylgruppe.

Aus dem Methoxylgehalt folgt, daß das Bakteriochlorophyll wie das Chlorophyll eine Methylestergruppe enthält, die bei der Porphyrindarstellung in einem gewissen Prozentsatz der Endprodukte erhalten bleibt.

In kleinen Mengen tritt außerdem ein drittes, stark basisches Porphyrin auf, das vermutlich auf die a-Modifikation des genuinen Farbstoffs zurückgeht, jedoch noch nicht bearbeitet ist.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Im Ganzen betrachtet, zeigen die bisherigen Ergebnisse zum erstenmal das Vorkommen eines Farbstoffs im Pflanzenreich, der, ohne mit dem Chlorophyll identisch zu sein, diesem sehr nahe steht und aller Wahrscheinlichkeit nach funktionell dem Chlorophyll gleichwertig ist. Umgekehrt kann das Vorkommen dieses Farbstoffs als Beweis dafür angesehen werden, daß die schwefelfreien Purpurbakterien zu photosynthetischer Leistung befähigt sind. Ferner dürfte die starke spektrale Abweichung des genuinen Bakteriochlorophylls vom Chlorophyll, die schon allein bei Entfernung des Magnesiums einer starken Analogie Platz macht, zu vergleichenden Schlüssen auf die Struktur des Chlorophylls und des Bakteriochlorophylls brauchbar werden.

III

Wasserhaushalt

1. Beiträge zur Physiologie und Ökologie von Strand-, Dünen- und Salzpflanzen[1])

Von Wilhelm Benecke

Wenn in diesem Berichte, der in erster Linie den Fragen des pflanzlichen Stoffwechsels gewidmet ist, auch Untersuchungen über die Beeinflussung verschiedener Gewächse durch den Salzgehalt des Bodens Platz finden, so ist das damit zu rechtfertigen, daß der Salzgehalt des Standortes, ganz abgesehen von seiner chemischen Wirkung auf den Stoffwechsel aus rein physikalischen Gründen die Wasserentnahme der Wurzeln aus dem Boden beeinflußt und daß die Wasserdurchströmung einer Pflanze und ihr Stoffwechsel aufs innigste miteinander verknüpft sind; hat man doch mit Erfolg versucht, den Ertrag, den die Menschen ihren Kulturpflanzen abgewinnen können, mit dem Maß der Wasserdurchströmung in verschiedenen Klimaten in quantitative Beziehung zu setzen.

Im Verfolg solcher Gedankengänge wurde daher von uns versucht, im Anschluß an eine große Reihe bereits vorliegender Studien das Gedeihen gewisser Pflanzen, zumal aber ihren Wasserhaushalt, in Abhängigkeit von dem Salzgehalte des Bodenwassers zu untersuchen[2]).

Zu diesem Behufe wurden Laboratoriumsversuche angestellt, außerdem ökologische Untersuchungen der natürlichen Standorte vorgenommen. Bei der Suche nach geeigneten Versuchspflanzen fiel zunächst die Wahl auf bestimmte Vertreter der Flora der ostfriesischen Inselwelt, einmal auf die Gräser, welche integrierende Bestandteile der dortigen Strand- und Dünenflora sind, sodann auf typische

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) W. Benecke, Zur Biologie der Strand- und Dünenflora I, Ber. d. deutsch. Bot. Ges. 1930, Bd. 48, S. 127. — W. Benecke und A. Arnold, Zur Biologie der Strand- und Dünenflora II, Ber. d. deutsch. Bot. Ges. 1931, Bd. 49, S. 363 (hier auch weitere einschlägige Literatur). — W. Benecke, Kulturversuche mit Aster Tripolium, Z. f. Bot. 1930, Bd. 23, S. 745. — K. Bickenbach, Beiträge zur Anatomie und Physiologie einiger Strand- und Dünenpflanzen. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen, Bd. 19, S. 334. Diss. Münster 1932. — W. Benecke und A. Arnold, Kulturversuche mit Keimlingen von Mangrovepflanzen. Planta 1931, Bd. 14. S. 471.

Salzpflanzen, welche, meistens durch fleischigen Habitus ausgezeichnet, als Halophyten hauptsächlich den Wattstrand und die Außenweiden der genannten Inseln, wie andere ähnliche Standorte bewohnen.

Im Anschluß an diese Untersuchungen heimischer Strand-, Dünen- und Salzpflanzen haben wir ferner versucht, einigen Aufschluß zu gewinnen über die edaphischen Lebensbedingungen jener tropischen Flutgehölze, welche als Mangrove allbekannt sind.

A. Vergleichende Versuche über die Salztoleranz von Ammophila arenaria, Elymus arenarius und Agriopyrum junceum

Es sind hauptsächlich die Arbeiten E. Warmings, denen wir die näheren Kenntnisse von den Standorten der drei genannten, auch an unseren einheimischen Küsten wichtigen und verbreiteten Gräser verdanken. Wenn aber jetzt allgemein bekannt ist, daß sie sich dem Salzgehalt des Bodenwassers gegenüber nicht gleich verhalten, daß vielmehr der Binsenweizen (Agr. junc.) mehr Salz verträgt als der „echte Helm" (Ammoph. aren.), indem jener als Pionier sich auf den Sandplatten am weitesten gegen das Meer hinaus vorwagt, dieser aber den salzfreien Sand der Dünen bevorzugt, so ist das in erster Linie das Verdienst von J. Reinke. Die Tatsache selbst ist dann durch die Arbeiten zahlreicher belgischer, holländischer, englischer, französischer Forscher auch für die Küsten ihrer Heimat bestätigt worden. Von den dritten der genannten Gräser, dem „blauen Helm" (Elymus arenarius) war nur soviel bekannt, daß er gelegentlich ebensoweit gegen das Meer hinausgeht wie der Binsenweizen, daß er aber doch, ähnlich dem „echten Helm", mehr eine Dünenpflanze, also Sand-, nicht Salzpflanze ist. Da quantitative Daten über die von den genannten Gräsern noch tragbaren Salzkonzentrationen in der Literatur fehlten, schien es lohnend zu sein, diese Lücke auszufüllen und zunächst einmal durch Laboratoriumsversuche, in denen freilich die natürlichen Lebensbedingungen nicht reproduziert werden konnten[1]), die drei Gräser vergleichend auf ihre Salztoleranz zu untersuchen. Sie wurden zu diesem Zwecke in Mitscherlichschen Versuchsgefäßen bei stetig zunehmender, langsamer Versalzung des Bodens gezüchtet, wobei dafür Sorge getragen wurde, daß der Boden außer Seesalz immer die

[1]) Die klimatischen Bedingungen in Münster sind andere als am Nordseestrand; die in den Kulturgefäßen stetig steigende Versalzung des Bodens entspricht nicht den natürlichen Bedingungen. pH wurde in den Versuchen nicht variiert.

nötigen Nährsalze in zureichender Menge führte. Ganz im Einklang mit den natürlichen Bedingungen zeigte es sich zunächst, daß der „echte Helm" am wenigsten Seesalz vertrug, weniger als der Binsenweizen. Ging jener schon ein, oder stockte doch sein Wachstum, wenn er aus einer 2—3%igen Seesalzlösung saugen mußte, so vertrug dieser ca. 6—7%. Damit sollen keine allgemeingültigen Werte festgelegt werden, denn die Grenze des erträglichen Salzgehaltes schwankt mit der Schnelligkeit des Anstieges der Konzentration, der Entwicklung des Wurzelsystems und vielen anderen Bedingungen. Treibt man den Salzgehalt des Bodens nicht stetig in die Höhe, sondern gibt man von Zeit zu Zeit wieder etwas verdünntere Lösungen, die dann durch die Transpiration der Pflanzen allmählich wieder eingeengt werden, so kann dadurch, wie es scheint, die erträgliche Salzkonzentration gesteigert werden. Bei anderen Versuchen, die aber bis jetzt nicht weiter fortgeführt wurden, wurden auch Ammophila baltica und Calamagrostis epigaios als Versuchspflanzen verwendet. Erstere (bekanntlich ein Bastard zwischen Ammophila arenaria und Calamagrostis epigaios) scheint gegen Salz etwas weniger empfindlich, letztere eher etwas empfindlicher zu sein als Ammophila arenaria.

Etwas überraschend war das Ergebnis, daß der „blaue Helm" (Elymus arenarius), obwohl er in der Natur nicht jene ausgeprägte Pionierrolle spielt wie Agriopyrum junceum, doch mindestens ebensoviel, ja im Versuche sogar noch mehr Salz vertrug wie dieser, — konnte er doch noch aus einer ca. 10%igen Seesalzlösung saugen.

Unter den verschiedenen Außenfaktoren, welche das Vorkommen unserer Gräser beeinflussen, spielt also offenbar der Salzgehalt eine wichtige Rolle, ist aber naturgemäß keineswegs der einzige, der in Frage kommt. Worauf die verschiedene Salztoleranz der drei Gräser beruht, auf verschiedener Permeabilität (in diesem Falle könnten sich die drei Gräser in verschieden starkem Maße des Salzes erwehren) oder auf verschiedener Toleranz ihres Protoplasma gegenüber der Überschwemmung mit Salz oder auf anderen spezifischen Eigenarten, bedarf noch der Klärung.

In den genannten Versuchen wurde auch auf die Wasserdurchströmung bei verschieden starker Salzung geachtet und gefunden, daß diese bei all den genannten Gräsern durch genügend starken Salzgehalt gebremst wird. Das wurde sowohl an der Verminderung der Wasseraufnahme aus den Untersätzen der Gefäße, in welche die Wurzeln tauchten, als auch durch die mittels Kobaltpapier unter-

suchte Transpiration der Blätter ermittelt. Die morphologischen Veränderungen, welche die Salzung auslöste, wurden gleichfalls beachtet: die Erhöhung der Transpirationswiderstände in den Blättern als Folge der Versalzung des Bodens, bestand in Verdickung der Cuticula, Verstärkung des Wachsüberzuges (bei Elymus und bei Agriopyrum). Die Spaltöffnungen der gesalzenen Pflanzen neigten zum Schluß. Die Wurzeln waren in ihrer Ausbildung mit steigendem Salzgehalt mehr und mehr gehemmt; jene bei typischen Halophyten nachweisliche Förderung des Wurzelsystems durch Salzzusatz, worin eine regulatorische Tätigkeit behufs erleichterter Wasseraufnahme erblickt werden kann, fehlte also bei unsern Gräsern.

Neben den geschilderten wurden auch noch analoge Versuche angestellt, bei welchen aber die Pflanzen nicht in mehr oder minder stark gesalzenem Boden wurzelten, sondern in Nährsalzlösungen, welche kein Seesalz erhielten oder aber mehr oder minder starke Seesalzgaben. Diese Versuche wurden dann von Karl Bickenbach weiter ausgewertet. Auch hier zeigte sich, daß Ammophila am wenigsten Salz vertrug, vielleicht etwas mehr als in den oben genannten Versuchen, jedenfalls aber weit weniger als die beiden anderen Gräser. Ferner wurde die Transpiration in Abhängigkeit vom Salzgehalt der Nährlösungen ermittelt und wiederum ihre Senkung durch den Salzgehalt der Lösung festgestellt und zwar nicht nur mittels der Kobaltmethode, sondern auch quantitativ, mittels Wägung. Außerdem zeigten sich auch in diesen Versuchen die oben genannten verstärkten Transpirationswiderstände in den Blättern der gesalzenen Pflanzen, während die Wurzeln der Gräser keinerlei regulatorische Vergrößerung durch Salzung zu erkennen gaben.

B. Der Salzgehalt der natürlichen Standorte von Agriopyrum junceum und Ammophila arenaria auf dem Sandstrande von Norderney

Da es, wie oben erwähnt, ausgeschlossen ist, die natürlichen Standorte von Pflanzen des Nordseestrandes in unsern Laboratorien und Botanischen Gärten des Binnenlandes auch nur einigermaßen naturgetreu nachzuahmen, war es nunmehr im Anschluß an die obigen Versuche geboten, die Salzverhältnisse der natürlichen Standorte unserer Gräser zu untersuchen, eine Aufgabe, der ich mich gemeinsam mit August Arnold unterzog. Wir beschränkten uns zunächst

auf die Insel Norderney, und konnten hier zunächst die schon bekannte, auch oben erwähnte Zonierung der Vegetation des Außenstrandes feststellen, derart daß Agriopyrum weiter zum Meer hin vorstößt als Ammophila. Des weiteren wurde die Konzentration des Wassers festgestellt, die sich an den verschiedenen Standorten zeigte. Wir fanden, daß die Konzentration des Grundwassers bzw. Bodenwassers, in welches die Wurzeln von Agriopyrum junceum tauchen, normalerweise an den von uns untersuchten Standorten nicht über 2% steigt (doch kann an bestimmten Stellen der Binsenweizen auch in natura mehr Salz vertragen). Wenn in unsern oben genannten Laboratoriumsversuchen die Grenze des erträglichen Salzgehaltes zwischen 6 und 7% lag, so zeigt das, daß, wie nicht anders zu erwarten, nicht lediglich der Salzgehalt den Ausschlag gibt, sondern noch andere Faktoren. Gilt somit für den Binsenweizen, daß er in der Natur nicht bis an die Grenzen des im Versuche tragbaren Salzgehaltes geht, so gilt das auch für den „Helm". Er siedelt sich nach unsern Standortsuntersuchungen auf Norderney kaum an solchen Stellen des Strandes an, welche mehr als 1% Salz im Grundwasser führen, während er im Versuch, wie wir hörten, immerhin reichlich die doppelte Menge, vielleicht noch mehr vertragen kann. Die dritte unserer Versuchspflanzen, den „blauen Helm", haben wir bisher auf Norderney nicht in der Nähe der See, auf salzigem Boden gefunden, vielmehr nur da, wo Sand und Grundwasser kein Salz führen; wir können somit auf Grund der Norderneyer Untersuchungen nichts über den Salzgehalt der natürlichen Elymus-Standorte auf dem Außenstrand sagen, das soll aber nachgeholt werden anläßlich einer Mitteilung über die Standorte der drei Gräser auf Borkum, Juist und dem Memmert, die in Vorbereitung ist.

C. Halophyten

Die Probleme, welche die Morphologie und die Physiologie der Salzpflanzen betreffen, gehören zu den bemerkenswertesten, aber auch meist umstrittenen des pflanzlichen Stoffwechsels im allgemeinen und des Wasserhaushaltes im besonderen. Allbekannt ist die Lehre Schimpers und seiner Nachfolger, die besagt, daß die genannten Pflanzen Einrichtungen zur Einschränkung ihrer Transpiration besitzen und daß die vielen auffälligen Eigenarten ihrer Organisation, zumal die so häufige Sukkulenz auf die Herabsetzung der Wasserdampf-

abgabe hinzielen. Wie versuchen nun die verschiedenen Forscher, die sich Schimper anschließen, die Notwendigkeit der Befähigung zur Transpirationssenkung, somit auch zur Senkung der Wasseraufnahme und Wasserdurchströmung dem Verständnis näher zu bringen?

Die einen nehmen an, daß bei allzu lebhafter Transpiration die Pflanzen salziger Standorte Gefahr laufen können, soviel Salz mit dem Wasser aus dem Boden aufzunehmen, daß sie damit überschwemmt, geschädigt, getötet würden. Es wird dabei stillschweigend angenommen, daß die Salzpflanzen nicht in der Lage seien, sich durch regulatorische Änderung der Permeabilität ihres Plasmas eines Überflusses von Salz zu erwehren. Diese Meinung rechnet also mit der Möglichkeit eines Salztodes bei hemmungsloser Transpiration. — Andere Forscher stellen die Tatsache in den Vordergrund, daß salziger Boden sein Wasser festhält, daß also die Pflanzen solcher Standorte, um nicht zu verdorren, imstande sein müssen, in ihren Zellen eine Saugkraft zu entwickeln, welche die des Bodens übertrifft. Sie erreichen das dadurch, daß sie Salze aus dem Boden aufnehmen, — spricht doch schon Schimper vom „Salzhunger" der Halophyten, — sodann durch Ansammlung löslicher Assimilate (z. B. Zucker) in ihren Zellsäften. Gleichwohl wird aber, zumal auf stark versalzenen Böden das Gefälle der Saugkraft zwischen Zellsaft und Bodenlösung nicht sehr groß sein, so daß es bei lebhafter Transpiration nicht immer ausreichen würde, um genügende Wassermengen in die Pflanze nachzusaugen. Diese zweite Ansicht rechnet also mit der Möglichkeit eines Trockentodes auf salzigem Boden, um die Notwendigkeit einer Transpirationshemmung zu erklären. Die Sukkulenz wird von solchen Forschern, die sich nicht damit begnügen, darin lediglich eine Halomorphose zu erblicken, wohl auch so gedeutet, daß durch sie für kurze Stunden des Wassermangels ein Wasserspeicher geschaffen wird, aus dem die assimilierenden Zellen schöpfen und damit die heißen, hellen Tagesstunden besser für die Kohlensäureassimilation ausnutzen können.

Die beiden eben genannten Lehrmeinungen, zwischen welchen naturgemäß andere Anschauungen vermitteln, werden als die Lehre von der physiologischen Trockenheit von Salzböden bezeichnet.

Schon lange waren aber Bedenken aufgetaucht, ob wirklich jene Organisation (Sukkulenz) eine nennenswerte Herabsetzung der Transpiration bedingt. Die Oberhaut der Halophyten ist ja keineswegs so derb, wie etwa die eines Kaktus. Die Stomata sind in großer Zahl

vorhanden und meistens nicht oder kaum eingesenkt. Auch war die Möglichkeit gegeben, daß Halophyten durch starke Wurzelentwicklung und durch Verringerung der Reibung in den Leitungsbahnen etwaige Widerstände, die sich der Wasseraufnahme aus dem Boden entgegenstellen, wieder wettmachen.

Jedenfalls waren exakte Transpirationsmessungen an Halophyten unerläßlich und wurden häufig angestellt. Solche stammen von Stocker, welcher fand, daß bestimmte Nordseehalophyten auch aus mäßig gesalzenem Boden ebensoviel Wasser aufzunehmen vermögen und in Dampfform wieder abgeben, als sog. Mesophyten, unter Umständen sogar größere Mengen; dieser Forscher leugnet aber ebensowenig wie alle anderen, daß Salze des Bodenwassers aus den oben erwähnten physikalischen Gründen die Wasserdurchströmung der Pflanze senken müssen.

Da nun die Frage, ob Mesophyten oder Halophyten stärker transpirieren, in dieser allgemeinen Fassung nicht beantwortet werden kann, haben wir uns in den jetzt zu besprechenden Arbeiten nur die Aufgabe gestellt, im Anschluß an einige schon vorliegende Studien die Frage zu fördern, wie sich die Wasserdurchströmung von Exemplaren einer und derselben Halophytenspezies verhält, welche entweder ohne Salzzufuhr oder auf verschieden stark gesalzenen Substraten, sonst aber unter ganz gleichen Bedingungen gezogen werden. Im Anschluß an Poma und Montfort wurde als Versuchspflanze die Seestrandaster verwendet und in ganz gleicher Weise wie die oben behandelten Gräser in Mitscherlichschen Gefäßen in ungesalzenem und in verschieden stark gesalzenem Boden auf dem Altan des Botanischen Instituts zu Münster gezüchtet. Auch bei diesen Pflanzen reagieren Wurzeln und Sproß ganz verschieden auf den Salzgehalt des Substrates. Erstere wird im Gegensatz zu dem Verhalten der oben geschilderten Gräser durch recht erhebliche Salzgaben, z. B. 3% oder mehr, gefördert, der Sproß zeigte in Übereinstimmung mit den Angaben von Poma das Optimum seiner Entwicklung bei mäßig starker (z. B. 1%) Salzzufuhr. Der Salzgehalt des Bodenwassers konnte bis über 6% gesteigert werden, ohne daß die Pflanze abstarb. Die Flächentranspiration, gemessen mit Kobaltpapier, wurde durch den Salzgehalt, schon wenn dieser nur 1% betrug, herabgesetzt. Die Spaltöffnungen neigten wie die Injektionsmethode erwies, bei den gesalzenen Pflanzen mehr zum Schlusse, als bei den ungesalzenen. Im übrigen fiel die etwas stärkere Sukkulenz, die dickere Cuticula,

der stärkere Wachsüberzug der Blätter der gesalzenen Pflanzen auf, vielleicht war auch die Neigung ihrer Blätter zur Vertikalstellung (Kompaßstellung) als Transspirationsschutz zu deuten. Nebenbei bemerkt, waren gesalzene Blätter gegen Schneckenfraß besser geschützt als ungesalzene (Massart). Saugkraftuntersuchungen, welche nach Ursprungs vereinfachter Methode angestellt wurden, zeigten bei ungesalzenen wie bei gesalzenen Pflanzen ein Saugkraftgefälle von den Blättern bis zur Wurzel, die ihrerseits eine etwas größere Saugkraft als die Lösung besaß. Bei stark gesalzenen Pflanzen war dies Gefälle aber nicht mehr sehr erheblich.

Zu ähnlichen, nur in quantitativer Beziehung genauer ausgedeuteten Ergebnissen kam Karl Bickenbach. Er zog seine Astern aus Früchten und züchtete sie in Nährlösungen ohne oder mit verschieden starkem Seesalzzusatz; auch er fand, und zwar mittels der Wägemethode, eine Depression der Transpiration infolge der Salzung. Der Spaltöffnungsapparat bei gesalzenen Pflanzen stellte, abgesehen von der Tendenz der Spalten zum Schließen, auch insofern einen gesteigerten Transpirationswiderstand (Seybold) dar, als die Spalten bei gesalzenen Pflanzen in geringerer Zahl auf der Flächeneinheit ausgebildet waren und die Spalten selbst kleiner waren als bei den Exemplaren, welche ohne Seesalzzufuhr gezüchtet worden waren. Es zeigte sich also, daß die Transpirationswiderstände: verdickte Cuticula, Wachsüberzüge, Spiel der Spaltöffnungen zusammen mit der erhöhten Saugkraft des Substrates so erheblich waren, daß die bei Salzzufuhr sichtbare Vergrößerung der Wurzelsysteme nicht dazu ausreichte, um durch erhöhte Wasserzufuhr die Wirkung dieser Transpirationswiderstände auszugleichen. Versuche, bei denen Süßwasserastern in eine gesalzene Nährlösung überführt werden, — sie vertrugen ohne Schaden die plötzliche Steigerung der Seesalzkonzentration von 0 auf 1—2%, — ergaben hinsichtlich der Transpiration eine Depression bei zunehmender Salzung, die einem allmählichen Wiederanstieg Platz machte. Rückversetzung solcher Astern in Süßwasser bedingte, daß die Transpiration über den ursprünglichen Süßwasserwert stark gesteigert wurde.

D. Kulturversuche mit Keimlingen von Mangrovepflanzen

Seitdem man versucht hat, die Ökologie der als Mangrove bekannten, an See- bzw. Brackwasser gebundenen, tropischen Pflanzen-

gesellschaft wissenschaftlich zu ergründen, zeigte es sich, daß innerhalb der Mangrove eine Zonenbildung der verschiedenen Gewächse, die mit dem Salzgehalt des Bodenwassers parallel läuft, zu beobachten ist. Die äußersten mit dem Meere kämpfenden Vorposten leben in reinem Seewasser, die nach dem Land hin sich anschließenden aber in mehr und mehr ausgesüßtem Boden. Außerdem bedingen die Gezeiten einen dauernden Wechsel im Salzgehalt des Substrates, wobei vorläufig zweifelhaft ist, inwieweit dieser Wechsel sich bis in diejenigen Regionen des Schlammes hinein erstreckt, in denen sich die Saugwurzeln finden. Verschiedentlich ist die Meinung aufgetaucht, daß die am weitesten in die See hinausgehenden Arten, — in der östlichen Mangrove Rhizophora oder Avicennia — am meisten Salz ertragen, vielleicht sogar obligatorische Halophyten sind, wie das für den Queller, Salicornia, unter den einheimischen Salzpflanzen gilt. Systematische Untersuchungen über diese Fragen fehlen aber. Einige Angaben, zumal von Hans Winkler und Hans Fitting, welche über prächtige Gewächshäuser in ihren Botanischen Gärten verfügen, besagen, daß in unsern Gärten bestimmte Mangrovepflanzen ohne Salz üppig gedeihen können. Andererseits hörten wir, als unsere Untersuchungen schon einen vorläufigen Abschluß erreicht hatten, daß Rhizophoren im Garten zu Buitenzorg nicht gedeihen und deshalb dort als obligatorische Halophyten gelten.

Wir benutzten daher gern die Gelegenheit, daß Apotheker Otto Hopmann, ein früherer Schüler unseres Institutes, uns aus Sumatra eine größere Anzahl lebender Hypokotyle zweier Mangrovepflanzen, Rhizophora conjugata und Bruguiera gymnorhiza, sandte, um einen bescheidenen Beitrag zur Frage der Halophilie dieser Gewächse zu liefern, wohl wissend, daß eine befriedigende Lösung dieser Aufgabe vielleicht nur in den Tropen oder doch ganz ungleich leichter in den Tropen möglich sein wird.

Wir zogen die Hypokotyle in Wasserkultur; es wurde das v. d. Cronesche Nährsalzgemisch verwendet; als Lösungsmittel diente Leitungswasser oder mehr oder minder konzentrierte Seesalzlösungen. Der p_H belief sich anfangs auf 8 und wurde dann während der Kulturzeit durch Säurezusatz ganz langsam auf 4,5 gesenkt, um Chlorose zu vermeiden. Die Kulturen fanden im Warmhaus Aufstellung. — Die Ergebnisse lassen sich dahin zusammenfassen, daß Bruguiera sich zwar in 3% Seesalzlösungen gut bewurzelte, daß aber der Sproß gedrückt

blieb und endlich infolge des zu starken Salzgehaltes abstarb. In 1% Salzlösung gediehen Wurzeln und Sproß gut. Das Optimum, dessen genaue Lage wegen Materialmangels nicht ermittelt werden konnte, dürfte aber, jedenfalls für den Sproß bei ganz geringem Salzgehalt, vielleicht auch im Süßwasser liegen. Anders Rhizophora conjugata: Versuchten wir, sie als Glykyphyten zu züchten, so ging sie über kurz oder lang zugrunde, gedieh aber recht gut in 1—3% Seesalzlösung, der wie immer die nötigen Nährsalze beigegeben waren.

Eine bisher nicht ganz überwundene Schwierigkeit besteht darin, daß eine Anzahl unserer Versuchspflanzen aus schwer ersichtlichen Gründen nicht recht weiter gedeihen wollten, sondern trotz saurer Reaktion der Nährsalzlösung unter Verbleichung der Blätter kränkelten. Auch Pilzinfektion der Hypokotyle trat gelegentlich auf und trübte das Bild. So sind weitere Versuche, die unter möglichst natürlichen Bedingungen durchzuführen wären, zur Klärung der Frage erforderlich.

2. Forschungen über Fragen des Wasserhaushaltes bei Pflanzen[1])

Von Hans Fitting

Zu den wichtigsten Hauptproblemen der Pflanzenphysiologie gehört von jeher der Wasserhaushalt der Gewächse. Denn engste Beziehungen bestehen offenbar zwischen ihm und dem gesamten Leben der Pflanzen, so schon ihrem äußeren und inneren Bau, nicht weniger aber auch ihren verschiedenartigsten fundamentalen Stoffwechselvorgängen.

Die Pflanzenökologie, d. h. die Lehre von den Wechselbeziehungen zwischen den Pflanzen und ihrer Umwelt, ist nicht ohne triftige Gründe der Ansicht, daß die Gestaltsverschiedenheiten der grünen Pflanzen, wie sie uns z. B. in den physiognomischen Unterschieden zwischen den Vegetationen verschiedener Klimate der Erde so augenfällig entgegentreten, in erster Linie auf Differenzen im Wasserhaushalt beruhen. Die lebende Pflanze gibt bekanntlich infolge ihrer Wasserdurchtränkung und ihrer für sie so bezeichnenden äußeren Oberflächenentwicklung dauernd große Wassermengen in Form von Wasserdampf (Transpiration) ab. Infolgedessen ist, da nur sehr wenige höhere Pflanzen völlige Austrocknung vertragen, dauernder Ersatz des verloren gehenden Wassers aus dem Boden zur Erhaltung des Lebens nötig. Aufnahme hinreichender Wassermengen ist aber begreiflicherweise um so schwieriger, je trockner der Boden wird. Und dies ist gerade in den Trockengebieten der Erde (z. B. den Steppen, Savannen, Halbwüsten und ganz besonders den Wüsten) der Fall, wo gleichzeitig die Vorbedingungen zu besonders starker Transspiration gegeben sind. Nur solche Gewächse werden sich also in diesen Gegenden halten können, die im Gegensatz zu den Pflanzen feuchter Klimate und Standorte besonders haushälterisch mit ihren (oft kärglichen) Wasservorräten umzugehen verstehen oder die wohl außerdem für die immer wiederkehrenden langen Zeiten besonderer Trockenheit Wasserspeicher anlegen. Wichtigstes Mittel zur Einschränkung des

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Bonn.

Wasserverbrauches ist aber möglichste Verminderung der Transpiration, und solche ist durch sehr verschiedenartige Baueinrichtungen in höherem oder geringerem Maße erreichbar; so im äußeren Bau, vor allem durch starke Oberflächenverkleinerung (etwa durch Verzwergung des ganzen Körpers oder durch weitgehende oder völlige Reduktion der Blätter, ja selbst der Zweige), im inneren Bau ferner durch solche Ausbildung der peripheren Gewebeschichten, daß deren Wasserverdunstung möglichst herabgesetzt wird. Derartige Beobachtungen haben zu der ökologischen Ansicht geführt, daß überall auf Erden sehr enge Beziehungen zwischen den Baueigentümlichkeiten der grünen Pflanzen und den besonderen Bedürfnissen ihres Wasserhaushaltes bestehen, oder, anders ausgedrückt, daß es vor allem der Wasserfaktor der Standorte ist, an den die Gewächse in ihrem Bau ausgesprochen angepaßt sein müssen.

Aber auch viele wichtige Stoffwechselvorgänge sind direkt oder indirekt vom Wasserhaushalt aufs allerengste abhängig. Das leuchtet schon ohne weiteres ein, wenn man nur bedenkt, daß z. B. die Kohlensäureassimilation in ihrer Intensität ganz wesentlich an die Oberflächenentwicklung der grünen Teile gebunden ist, aber außerdem auch an den anatomischen Bau der peripheren Gewebe: Fast alle Baueigentümlichkeiten nämlich, die die Wasserdampfabgabe mehr oder weniger erschweren, werden auch der Aufnahme des für die Assimilation erforderlichen Kohlendioxyds aus der Luft, also der Stoffproduktion der grünen Pflanze, entgegenarbeiten. Bedenkt man ferner, daß der größte Teil des lebenden Pflanzenkörpers aus Wasser besteht, daß also das Wasser der wichtigste Baustoff der Pflanze ist, ohne dessen hinreichende Zufuhr daher kein Wachstum möglich wird, weiter daß das Wasser bei der Kohlensäureassimilation als Nährstoff ebenso notwendig ist wie das Kohlendioxyd der Luft, ferner daß das Wasser als wichtigstes Transportmittel zur Verfrachtung vieler Stoffe im Pflanzenkörper, im besonderen der aus dem Boden stammenden Nährsalze gebraucht wird, und endlich, daß vom Wasserhaushalt der Pflanzen deren Turgeszenz und der Quellungszustand lebenswichtiger Bestandteile, wie z. B. des Protoplasmas, abhängen, wodurch der Stoffwechsel auch wieder gleich vielen anderen Lebensvorgängen wesentlich beeinflußt werden kann, so leuchtet die sehr enge Verbundenheit von Wasserhaushalt und Stoffwechsel ohne weiteres ein.

Alles das sind Gründe genug, den Wasserhaushalt der Pflanzen physiologisch von möglichst vielseitigen Gesichtspunkten aus zu stu-

dieren, sowie die Methoden dafür immer weiter zu verbessern und zu verfeinern. Vor allem ist es dabei eine dringende Forderung unserer Zeit, früher in der Hauptsache durch geistreiche Deduktionen gewonnene Hypothesen der Pflanzenökologie, die weit über diesen Wissenschaftszweig hinaus in der Botanik richtunggebend gewirkt haben, durch induktive Forschung, d. h. pflanzenphysiologische Versuche, auf ihre Tragfähigkeit zu prüfen und hiermit auch für die Pflanzenökologie die dringend erforderlichen experimentellen Grundlagen zu schaffen. (Vgl. dazu Fitting, H., Aufgaben und Ziele einer vergleichenden Physiologie auf geographischer Grundlage, Jena 1922: und Fitting, H., Die ökologische Morphologie der Pflanzen im Lichte neuerer physiologischer und pflanzengeographischer Forschungen, Jena 1926.)

Von solchen Gesichtspunkten aus habe ich in den letzten Jahren einige physiologische Untersuchungen, z. T. mit dankenswerter Unterstützung seitens der Notgemeinschaft, von einer Reihe meiner Mitarbeiter durchführen lassen.

Die Pflanzenökologie lehrt, daß die Pflanzen trockener Standorte (man nennt diese Gewächse meist Xerophyten), wie schon erwähnt, Baueinrichtungen zur Einschränkung der Wasserdampfabgabe besitzen, Pflanzen feuchter Standorte (die sog. Hygrophyten) dagegen durch Mangel solcher Baueinrichtungen, ja im Gegenteil sogar durch Mittel zur Förderung der Transpiration ausgezeichnet sind. Infolgedessen mußte die Beobachtung Stockers (1923) überraschen, daß eine so ausgeprägt hygrophytische Schattenpflanze wie der Sauerklee (Oxalis acetosella) unserer Wälder in der Sonne weniger transpirierte als Sonnenarten unter gleichen Außenbedingungen. Eine eindringende Untersuchung folgender Fragen schien also brennend geworden zu sein: 1. Weist die Transpiration der Schattenarten gemeinsame Züge auf, wodurch sie sich von der Transpiration der Sonnenarten unterscheidet? 2. Welches sind die Unterschiede in der Transpiration zwischen Sonnen- und Schattenindividuen der gleichen Art? und 3. Falls sich bei Beantwortung der Fragen 1 und 2 Differenzen nachweisen lassen, auf welchen physikalischen oder physiologischen Eigenschaften dürften diese beruhen? Marie Dietrich[1]) hat diese Fragen experimentell in Angriff genommen. Sie zog

[1]) Dietrich, M., Die Transpiration der Schatten- und Sonnenpflanzen in ihren Beziehungen zum Standort. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 65, 1926, S. 98ff.

Sonnen- und Schattenarten sowohl in der Sonne als auch im Schatten auf und bestimmte alsdann die Transpiration dieser vier Gruppen durch Ermittlung der Gewichtsverluste mehrerer ganzer, entsprechend vorbehandelter Individuen in gleichen Außenbedingungen gleichzeitig, und zwar zunächst im Schatten, alsdann in der Sonne, oder umgekehrt. Übertrug sie die Versuchspflanzen aus dem Schatten in die Sonne, so nahm die Transpiration im allgemeinen bei den untersuchten Sonnenarten, sofern sie in der Sonne aufgewachsen waren, stärker zu als bei den im Schatten aufgewachsenen Schattenarten; gleiches galt aber auch, und zwar in ähnlichem Ausmaße, für die Sonnen- und Schattenexemplare einer und derselben (Sonnen- oder Schatten-)Art. Und ganz entsprechend nahm beim Übergang aus Sonne in Schatten die Transpiration der Sonnenpflanzen (so nenne ich im folgenden die in der Sonne aufgewachsenen Sonnenarten und die Sonnenexemplare der Schattenarten) stärker ab als bei den Schattenpflanzen (also den im Schatten aufgewachsenen Schattenarten und den Schattenexemplaren der Sonnenarten).

Diese Beobachtungen weisen zunächst darauf hin, daß es offenbar nicht nur von den spezifischen Eigenheiten, sondern auch vom Vorleben einer Pflanzenart abhängt, wie sie auf Änderungen der normalen Umweltsfaktoren reagiert. Mit anderen Worten: Der Lebensraum, worin ein Individuum aufgewachsen ist, prägt ihm Eigenheiten auf, die bei Veränderung dieser Umwelt weiter fortwirken und seine physiologischen Leistungen, in unserem Falle die Transpiration der Sonnenpflanzen, alsdann anders als bei den Schattenpflanzen beeinflussen. Die Pflanze paßt sich also offenbar mehr oder weniger an die Besonderheiten des Lebensraums, in dem sie aufwächst, gleich dem Tiere an. Diese auch bei genauerer Untersuchung anderer Lebensäußerungen der Pflanzen neuerdings gewonnene Erfahrung ist natürlich für alle weiteren physiologischen Forschungen, zumal solche, bei denen es auf quantitative Messungen ankommt, von sehr großer Bedeutung, da sie augenscheinlich dazu nötigt, viel mehr als bisher das Vorleben der Versuchspflanzen in Betracht zu ziehen, also auch die Versuche womöglich nicht nur unter Bedingungen, die den Versuchspflanzen mehr oder weniger fremd sind, z. B. im Laboratorium, auszuführen.

Um nun zu erkennen, welche Eigenschaften bei Sonnen- und Schattenpflanzen durch die Unterschiede ihrer Lebensräume verschiedene Prägung erhalten haben, war es nötig, die durch den Ge-

wichtsverlust ermittelte Transpiration bei beiden Pflanzengruppen auf ihre Oberflächeneinheit zu beziehen. Erfahrungsgemäß gelingt es dadurch, die Einflüsse weitgehend zu erfassen, die vom anatomischen Bau der Oberfläche, d. h. der peripheren Gewebe, auf die Transpiration ausgeübt werden. Bei solcher Umrechnung ergab sich, daß die Sonnenarten, gleichgültig ob es Sonnen- oder Schattenexemplare sind, unter gleichen Außenbedingungen sowohl in der Sonne als auch im Schatten immer eine stärkere Transpiration der Flächeneinheit zeigen als die Schatten- und Sonnenexemplare der Schattenarten. Die Flächentranspiration der Sonnenarten ist also der Verdunstung der Schattenarten ceteris paribus stets überlegen. Dies beruht offenbar darauf, daß die Sonnenarten, wenig veränderlich durch Kultur, in Sonne oder Schatten solche anatomischen Oberflächeneinrichtungen beibehalten, die ausgesprochen transpirationsfördernd wirken, und umgekehrt die Schattenarten solche, die transpirationshemmend sind. Durch diese Befunde wird also die gegenteilige Lehre der Pflanzenökologie, daß die Sonnenpflanzen transpirationshemmenden, die Schattenpflanzen dagegen transpirationsfördernden anatomischen Bau besitzen, wenigstens für die untersuchten einheimischen Schatten- und Sonnenpflanzen widerlegt, und Stockers oben erwähnte Beobachtung bestätigt. Zugleich wird durch sie gezeigt, daß die Sonnenarten bei Kultur im Schatten anatomisch wenigstens nicht völlig und wesentlich den Charakter von Schattenpflanzen annehmen, oder umgekehrt die Schattenarten bei Kultur in der Sonne nicht die anatomischen Eigenschaften der Sonnenarten. Solche anatomischen Speziesunterschiede fallen natürlich fort, wenn man von einer und derselben, anatomisch also wie gezeigt, nicht wesentlich veränderlichen, Art, und zwar gleichgültig, ob von einer Sonnen- oder einer Schattenspezies, Exemplare in Licht und in Schatten aufzieht. Alsdann scheinen die Sonnenexemplare (mögen sie nun von Sonnen- oder von Schattenarten stammen) in der Sonne eine stärkere, im Schatten dagegen eine geringere Transpiration der Flächeneinheit zu zeigen als die Schattenexemplare, oder anders ausgedrückt: Pro Flächeneinheit transpirieren im Schatten die Schattenexemplare stärker als die Sonnenexemplare, in der Sonne die Sonnenexemplare dagegen stärker als die Schattenexemplare. Sonnen- und Schattenpflanzen reagieren also auf Beschattung und auf Besonnung verschieden. Daß die Gewächse ihre Transpiration je nach den Außenbedingungen,

in die wir sie bringen, und zwar vor allem unter dem Einfluß von Lichtschwankungen, weniger von Feuchtigkeitsschwankungen der Luft regulatorisch schnell verändern können, wissen wir seit langem. Das geschieht vor allem, wenn auch nicht allein, durch physiologische Erweiterung (bei Verstärkung des Lichtes oder Erhöhung der Feuchtigkeit) oder Verengerung (bei Abschwächung des Lichtes oder Verminderung der Feuchtigkeit) der für die Transpiration sehr wichtigen Spaltöffnungen in der Oberhaut. Die Annahme liegt also sehr nahe, daß es im wesentlichen das durch Kultur in Schatten oder Sonne verschieden gewordene physiologische Regulationsvermögen der Spaltöffnungsapparate ist, das die gefundenen Unterschiede in der Transpirationsintensität zwischen den Schatten- und Sonnenexemplaren bedingt und das ferner auch zur Folge hat, daß die Sonnenpflanzen beim Übergang aus dem Schatten in helles Licht ihre Transpiration stärker steigern als die Schattenpflanzen. Wie andere lichtempfindliche Teile von Tieren und Pflanzen dürften sich nämlich auch die lichtempfindlichen Spaltöffnungsapparate an verschiedene Lichtintensitäten, von denen sie getroffen werden, adaptieren. Infolgedessen führen die an helles Licht adaptierten Spaltöffnungen der Sonnenpflanzen bereits Schließbewegungen bei Beschattung mit solchem Licht aus, worin die Spalten der an schwaches Licht adaptierten Schattenpflanzen noch weit offen bleiben. Umgekehrt neigen die an schwaches Licht adaptierten Spaltenapparate der Schattenpflanzen bei Belichtung mit Sonnenlicht zu Schließbewegungen, weil es für die Schattenpflanzen zu hell ist, während die hell adaptierten Spalten der Sonnenpflanzen sich in solchem Sonnenlicht weit öffnen. Leuchtet diese Erklärung auch sehr ein, zumal sie sich auf physiologische Erfahrungen stützen kann, so bedarf sie doch selbstverständlich eines experimentellen Beweises, zumal es auch noch andere, freilich weniger wahrscheinliche Erklärungsmöglichkeiten gibt. Frl. Dietrich hat also ihre Versuche in dieser Richtung fortgeführt, indem sie zunächst einmal sich bemüht hat, eine Vorstellung von der normalen Tätigkeit der Spaltöffnungsapparate am Wuchsort bei Sonnen- und Schattenpflanzen zu gewinnen. Sie bediente sich dazu der sog. Infiltrationsmethode, von der alsbald weiter die Rede sein wird. Leider ist sie aber über einige orientierende Versuche an Schatten- und Sonnenexemplaren von Schattenarten nicht hinausgekommen, weil sonst das für die Transpirationsversuche benötigte Pflanzenmaterial zu sehr beansprucht worden und weil zur hinreichenden Be-

antwortung dieser sehr schwierigen Fragen, wie sich bald zeigte, eine eingehende Sonderuntersuchung nötig gewesen wäre. Immerhin hat Frl. Dietrich wenigstens folgendes gefunden: Das Minimum der Lichtintensität, worin die Spalten der Schattenpflanzen offen sind, liegt sehr tief. Die Sonnenexemplare einer Schattenart haben an ihrem hellen Standort während des ganzen Tages die Spalten weiter offen als die Schattenexemplare an ihren dunkleren Standorten. Endlich, was besonders wichtig ist und alsbald von anderer Seite (Leick, 1927) für viele Pflanzen Bestätigung gefunden hat, aber auch schon früher gelegentlich von Ruhland beobachtet wurde, die Spalten auf der Blattunterseite können sich ganz anders verhalten als die der Blattoberseite; während bei der Haselwurz (Asarum europaeum) die Spalten der Oberseite auf Änderungen der Beleuchtungsintensität sehr gut reagieren, wird dadurch die Spaltenweite auf der Blattunterseite sehr wenig beeinflußt. —

Margarete Schorn erhielt von mir den Auftrag, das Verhalten der Spaltöffnungen bei Schatten- und Sonnenpflanzen im Anschluß an die Versuche Frl. Dietrichs womöglich eingehender zu studieren. Infolge der einander widersprechenden Ergebnisse einiger orientierenden Vorversuche sah ich mich aber bald genötigt, der Untersuchung eine andere Richtung zu geben. Die zur Messung von Spaltöffnungsweiten gebräuchlichen Methoden erwiesen sich nämlich sämtlich als so unzuverlässig, daß zunächst einmal ihre Leistungsfähigkeit sorgfältig geprüft werden mußte, um nicht Scheinergebnissen zum Opfer zu fallen[1]).

Die zur Beurteilung der Spaltenweiten angegebenen Methoden kann man in direkte und indirekte einteilen. Beide Gruppen haben ihre Vor- und Nachteile. Nur die direkten Methoden erlauben es, die Weiten der Spalten unmittelbar zu messen, während die indirekten nur eine ungefähre Schätzung ermöglichen, die aber vom wirklichen Zustand der Spalten möglicherweise ganz verschieden ausfallen kann.

Direkte Methoden waren bisher vor allem die mikroskopische Messung der Spaltenweiten an dünnen lebenden oder schnell mit absolutem Alkohol fixierten Oberhautschnitten von Blättern. Gegen sie muß zunächst eingewendet werden, daß sich die Weiten der sehr empfindlichen Spalten durch die Präparation der Schnitte oder deren

[1]) Schorn, M., Untersuchungen über die Verwendbarkeit der Alkoholfixierungs- und der Infiltrationsmethode zur Messung von Spaltöffnungsweiten. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 71, 1929; S. 783ff.

Alkoholfixierung oder beides unkontrollierbar geändert haben könnten. Eine direkte mikroskopische Untersuchung der winzigen Spalten auf den unverletzten Blättern stieß aber fast stets auf unüberwindliche Schwierigkeiten. Ohne Zweifel wäre eine zuverlässige Ermittlung der Weiten normaler Spalten von großer Wichtigkeit. Hiermit ist aber für die Beurteilung der physiologischen Leistungsfähigkeit eines ganzen Blattes, genau genommen, noch recht wenig gewonnen. Denn die Zahl der sehr kleinen Spalten geht bereits pro Quadratmillimeter Blattfläche in die Hunderte, und die Öffnungsweiten können erfahrungsgemäß von Spalte zu Spalte sowie von Blattabschnitt zu Blattabschnitt mehr oder weniger schwanken, so daß selbst die, kaum ausführbare, Messung von vielen tausenden von Spaltenweiten noch keinen ganz klaren Einblick in die durchschnittliche Wegsamkeit aller Spalten auch nur einer Blattseite zu liefern vermag. Allerdings hat man diesen Mangel der direkten Methoden dadurch mehr oder weniger zu beseitigen versucht, daß man die Weiten vieler Spalten an Schnitten durch direkte Beobachtung nur abgeschätzt hat, anstatt jede einzelne genau auszumessen.

In dieser Hinsicht, und nur in dieser, dürften von vornherein vielleicht als etwas leistungsfähiger die indirekten Methoden angesehen werden können, da sie ihrer Natur nach nicht die Weiten der einzelnen Spalten, sondern höchstens den durchschnittlichen Öffnungszustand aller Spalten einer Blattseite oder von Stücken einer solchen durch Schätzung erfassen lassen. Von den zahlreichen indirekten Methoden schien am ehesten brauchbar die wohl auch am häufigsten verwendete sog. Infiltrationsmethode, die gleichzeitig von Molisch und Stein 1912 eingeführt worden ist. Sie beruht auf der Beobachtung, daß sehr schnell gewisse, namentlich leicht bewegliche, Flüssigkeiten noch durch verhältnismäßig enge, zähere nur durch mittel- und sehr weit geöffnete, ganz zähe endlich nur noch durch sehr weit offene Spalten in die Zwischenzellräume der subepidermalen Gewebe, diese infiltrierend, einzudringen vermögen. Die mit dem bloßen Auge durch den Grad der eintretenden Verfärbung des Blattes erkennbare Infiltration, die nach Betupfen desselben mit solchen verschieden zähen Flüssigkeiten, wie etwa Alkohol, Benzol, Xylol („Infiltrationsreihen"), eintritt, soll also indirekt Einblicke in den Öffnungszustand der Spalten zulassen. Während vielfache Erfahrung gezeigt hat, daß diese Methode für grobe Orientierungen darüber, ob die Spalten ganz oder nahezu ganz geschlossen oder ob sie weit offen sind, vor-

trefflich sich eignet, blieb dagegen unklar, ob sie, etwa in besonderer Ausgestaltung, auch noch der Schätzung feinerer Unterschiede im Öffnungszustande der Spalten dienstbar gemacht werden kann.

Eine Vergleichung der Alkoholfixierungs- und der Infiltrationsmethode, die Frl. Schorn zunächst vornahm, ergab zwischen beiden sehr große Unstimmigkeiten, woraus geschlossen werden mußte, daß entweder eine oder beide Methoden zur Ermittlung der wahren Spaltenweiten nicht ausreichen. Infolgedessen wurde nun eine jede Methode eingehend auf ihre Leistungsfähigkeit hin untersucht.

Was die Alkoholfixierungsmethode betrifft, so wurde zunächst die Weite einer und derselben Spalte auf dünnen Oberflächenschnitten vor und nach der Fixierung mikroskopisch genau gemessen, um den Einfluß des Alkohols auf die Spaltenweiten zu ermitteln. Bei vielen Pflanzenarten änderten sich, entsprechend den Angaben des Erfinders dieser Methode Lloyd, die Spaltenweiten durch die Alkoholfixierung nicht; aber es gab Ausnahmen. Bei manchen Arten nahm die Weite eines großen Teiles der Spalten nämlich durch die Fixierung zu, bei wieder anderen dagegen bis zu völligem Schluß ab.

Da schon durch die Anfertigung der Schnitte die Spaltenweiten gegenüber dem unverletzten Blatt verändert werden könnten, mußten nun ferner womöglich die Spaltenweiten am ganzen Blatt und im lebenden Schnitt miteinander verglichen werden. Frl. Schorn suchte die große Schwierigkeit einer mikroskopischen Beobachtung der Spalten auf dem unverletzten Blatt durch Einführung des Vertikalilluminators zu beseitigen. Leider sind nur wenige Blätter, nämlich nur solche mit großen und nicht eingesenkten Spalten, für solche Betrachtung geeignet, und darunter wieder nur die, deren Spalten durch die nötige starke Belichtung des Beobachtungsfeldes nachweislich im Laufe vieler Minuten sich nicht veränderten. Ein Mangel dieser Methode bleibt, daß es nicht möglich ist, das Schicksal einer bestimmten Spalte bei Anfertigung der Schnitte zu verfolgen; man ist vielmehr immer auf Mittelwerte aus vielen Spalten, also auf Schätzung angewiesen. Trotz alledem bestätigten sich auch in solchen Versuchsreihen „mit einer nicht im entferntesten erwarteten Genauigkeit" die früher an Schnitten gewonnenen Ergebnisse. Durch die Herstellung von dünnen Schnitten scheinen sich also, abgesehen von den Schnitträndern, die Weiten der Spalten nicht wesentlich zu verändern.

Die Erfolge, die mit dem Vertikalilluminator erzielt wurden, berechtigen zu der Hoffnung, daß es künftig wenigstens bei einigen Pflanzenarten gelingen wird, die Spaltenweiten am unverletzten Blatte mittels der neuerdings wesentlich verbesserten Methoden der Oberflächenbeleuchtung, etwa mit Hilfe der sog. Opakilluminatoren, hinreichend genau zu ermitteln. Zugleich folgt aus den Beobachtungen von Frl. Schorn, daß auch die Alkoholfixierungsmethode bei vorsichtiger Anwendung für viele Pflanzen einwandfreie Ergebnisse ermöglicht, daß aber ihre Brauchbarkeit für jede einzelne Pflanzenart unbedingt erst besonders ermittelt werden muß.

Ebenso unzuverlässig hat sich ohne eingehende Erprobung die Infiltrationsmethode erwiesen. Denn Frl. Schorn fand, daß bei den bisher benutzten, aus mehreren chemisch ganz verschiedenen Flüssigkeiten bestehenden Infiltrationsreihen die Reihenfolge der Infiltration zur gleichen Zeit für verschiedene Pflanzenarten, ja selbst für ein und dasselbe Individuum unter wechselnden Bedingungen aus nicht ersichtlichen Gründen ganz verschieden sein kann. Ein Mangel in der bisherigen Anwendung dieser Methode liegt offenbar darin, daß zur Infiltration drei oder noch mehr chemisch verschiedene Flüssigkeiten, die auch recht verschiedene physikalische Eigenschaften besitzen, verwendet wurden; denn mit jeder neuen Flüssigkeit wurden neue ganz unbekannte Faktoren eingeführt, die in zur Zeit noch unübersehbarer Weise Einfluß auf die Infiltrationsgrade haben. Daher versuchte Frl. Schorn die Methode dadurch zu verbessern, daß sie Mischungen von nur zwei, aber recht verschieden stark infiltrierenden, Flüssigkeiten benutzte. Als solche erwiesen sich Äthylenglykol und Isobutylalkohol brauchbar. Diese Reihe bewährte sich bei richtiger Anwendung in der Tat bei mehr als 30 Pflanzenarten des Botanischen Gartens überraschend gut. Jedoch blieb bei einigen Pflanzenarten leider auch diese Abwandlung der Methode unzuverlässig. Bei diesen ergab sich durch Vergleichung der eintretenden Infiltration weder mit den Weiten alkoholfixierter Spalten an einem und demselben Blatt, noch mit den Weiten lebender Spalten auf den unverletzten Blättern irgendwelche Übereinstimmung. Frl. Schorn kommt daher zu dem Schlusse, daß die Infiltrationsmethode selbst in ihrer wesentlich verbesserten Form nur mit derartig vielen Fehlermöglichkeiten behaftete Urteile über den Öffnungsgrad der Spalten zuläßt, daß es also ganz ungerechtfertigt ist, ohne weiteres darauf zu bauen. Mit keiner bekannten Methode allein ist man in

der Lage, die Spaltenweiten zuverlässig zu ermitteln. Quantitative Forschungen über Spaltenweiten setzen vielmehr kritische Anwendung mehrerer Methoden, also ein sehr vor- und umsichtiges Untersuchungsverfahren voraus.

Ob es nach allen diesen Beobachtungen möglich werden wird, die, vielleicht nur kleinen, Unterschiede in den Spaltenweiten etwa zwischen den Schattenpflanzen und den Sonnenpflanzen überhaupt mit Sicherheit zu erfassen, läßt sich noch nicht übersehen. Jedenfalls aber ist zu hoffen, daß infolge der Erfahrungen, die Frl. Schorn gesammelt hat, bei künftigen Untersuchungen über die Öffnungszustände der Spaltöffnungen vorsichtiger und kritischer verfahren wird als bisher. —

Wie schon aus den Untersuchungen Frl. Dietrichs hervorging, ist es in neuerer Zeit durch experimentelle Forschungen ganz unklar geworden, welche Beziehungen zwischen Struktur und physiologischen Leistungen, z. B. der Blätter, bestehen. So bleibt nun nichts anderes übrig, als diese Beziehungen, z. B. auch für den Wasserhaushalt, etwa die Transpiration, Schritt für Schritt durch mühsame experimentelle physiologische Untersuchungen möglichst aufzudecken. Bei der großen Kompliziertheit des Baues und der Transpirationsleistungen ist auf diesem Wege ein sicherer Fortschritt aber nur zu erwarten, wenn eine solche Analyse mit den einfachsten Fragestellungen beginnt. Die einfachste Art der Transpiration bei den höheren Pflanzen ist aber die, welche durch die äußeren Membranschichten der Oberhaut, die sog. Kutikula, erfolgt (kutikuläre Transpiration); denn hier handelt es sich nur um ein verhältnismäßig einfaches physikalisches System, das für die Pflanze aber von großer Wichtigkeit ist, weil in Fällen eintretenden Wassermangels nach dadurch bedingtem Spaltenschluß die Erhaltung des Lebens der Pflanzen von der Stärke der Minimaltranspiration, d. h. aber der nun allein noch wirksamen kutikulären Transpiration, abhängt. In der Ökologie und Physiologie herrscht die Ansicht, daß die kutikuläre Transpiration um so geringer, die Pflanze also auch gegen Austrocknung um so besser geschützt ist, je dicker die aus korkartigen Stoffen aufgebaute Kutikula ist, und daß infolgedessen mit Zunahme der Standortstrockenheit regulatorisch die Kutikula auf den Blättern verstärkt wird. Ob jene von vornherein recht einleuchtende Vorstellung aber richtig ist, ist bisher experimentell niemals hinreichend exakt untersucht worden. Es schien mir daher jetzt sehr wichtig, diese Aufgabe zu stellen. Herbert Kamp hat ver-

sucht, sie zu lösen[1]), und zwar mit Hilfe der für sehr kurz dauernde „Momentan"-wägungen ausgezeichnet geeigneten, 1927 auf Anregung des Botanikers Huber von Hartmann & Braun konstruierten kombinierten Balken- und Torsionswaage. Sie erlaubt es nämlich, mit abgeschnittenen Blättern sehr kurzfristige Wägungen auszuführen, ehe in ihnen wesentliche physiologische Veränderungen sich geltend machen, die durch das Abschneiden hervorgerufen werden und die Ergebnisse langfristiger Messungen sehr störend beeinflussen. Nur solche Blätter wurden für die Versuche verwendet, denen auf der einen Blattseite (der oberen) die Spaltöffnungen ganz fehlen. Die Transpirationsmessungen fanden an den Wuchsorten der Versuchspflanzen statt, also möglichst unter den Außenbedingungen, in denen sie sich entwickelt hatten. Bei allen Blättern wurde zunächst so schnell wie möglich nach dem Abschneiden die Gesamttranspiration, darauf nach Ausschaltung der unterseitigen Transpiration (durch Beschmieren mit Vaseline) die oberseitige, kutikuläre Transpiration ermittelt. Von morphologischen Unterschieden zwischen den Blättern wurden, abgesehen von Blattdicke, Wassergehalt und Oberflächenentwicklung, besonders die Dicken der Epidermisaußenwände und die Dicken ihrer kutinisierten Schichten genau bestimmt. Wie alle physiologischen Messungen, die ja stets an sehr verwickelt gebauten Systemen vorgenommen werden müssen, lassen sich natürlich auch solche Transpirationsmessungen nur äußerst schwer ganz exakt ausführen, so daß leider unvermeidliche Mängel in Kauf genommen werden müssen. Solche dürften aber bei diesen Untersuchungen die wesentlichen Ergebnisse nicht getrübt haben.

Beziehungen zwischen der Dicke der Epidermisaußenwände oder der Kutikulae und der kutikulären Flächentranspiration der Blätter ließen sich selbst innerhalb einer und derselben ökologischen Pflanzengruppe nicht erkennen. Nur bei den Arten innerhalb der Gattungen, sowie bei den Sonnen- und Schattenblättern innerhalb einer und derselben Art ergaben sich manchmal solche Beziehungen zwischen der kutikulären (aber niemals der Gesamttranspiration) und den Kutikulardicken, wohl weil hier noch gemeinsame chemische und strukturelle Züge im Kutikularbau vorhanden sind. Verschieden alte Blätter einer und derselben Art unterscheiden sich fast stets dadurch,

[1]) Kamp, H., Untersuchungen über Kutikularbau und kutikuläre Transpiration von Blättern. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 72, 1930; S. 403ff.

daß die jungen ausgewachsenen trotz oft viel geringeren Kutikulardicken merkwürdigerweise doch meist schwächere kutikuläre Transpiration aufweisen als die älteren. Offenbar haben außer der Dicke auch die Dichte und die chemische Beschaffenheit der Kutikula, Eigenschaften, die durch bloße Dickenmessungen gar nicht faßbar sind, großen Einfluß auf die Größe der kutikulären Transpiration. Eine Vergrößerung des Transpirationswiderstands ist der Pflanze also auch ohne Verdickung der Kutikula möglich. Nach allen diesen Beobachtungen geht es künftig nicht mehr an, ganz allgemein aus den Dicken der Kutikulae deduktive Schlüsse auf die relativen Stärken der kutikulären Transpiration oder gar auf den Schutz der Pflanze gegen Austrocknung zu ziehen. Kamps Versuche lehren demnach bei Bearbeitung einer sehr einfachen Fragestellung von neuem, daß die Beziehungen zwischen Bau und Funktion der Organe nicht so einfach und klar sind, wie es uns die Pflanzenökologie bisher hat glauben machen wollen.

3. Beiträge zur Kenntnis der Blutungserscheinungen beim Ahorn[1])

Von Hans Robert Bode

Im Vorfrühling zeigen einzelne unserer Bäume die auch dem Laien bekannte Erscheinung, daß eine Verletzung oder Freilegung des Holzkörpers eine reichliche Flüssigkeitsabgabe zur Folge hat; der Baum blutet. Das Rätsel des Zustandekommens der großen Drucke, mit denen die Wurzel das Wasser in den noch unbeblätterten Baum treibt, hat schon viele Pflanzenphysiologen angezogen und zu zahlreichen Untersuchungen veranlaßt; besonders wohl deshalb, weil in diesem Phänomen ein Zustand in der Pflanze gegeben ist, bei welchem Wasserbewegung und Mobilisierung der Speicherstoffe in engster Wechselwirkung zueinander stehen. Man möchte die Wanderwege kennen, die der Blutungssaft aus der Wurzel durch den Stamm bis in die Zweige hinein nimmt, und die Intensität, mit der er darin strömt. Von dem Blutungssaft werden Stoffe mitgeführt, deren Zusammensetzung und Mengen uns einen Einblick in den Verlauf der Mobilisierung der Speicherstoffe im Baum geben können. Der Baum, dessen Frühlingsbluten im folgenden behandelt wird, ist die Gattung Ahorn (Acer Negundo, A. insigne, A. platanoides). Der Ahorn ist ein ausgesprochener „Stärkebaum"; alle lebenden Elemente seines Holzes, d. h. die Holzparenchym-, Markstrahlzellen und die Holzfasern, die beim Ahorn nur zum kleineren Teil abgestorben sind, zeigen z. Z. der tiefsten Winterruhe, etwa Ende November, im anatomischen Bild enorme Mengen von Stärke im Sproß wie in der Wurzel. Im Vorfrühling beobachtet man Hand in Hand gehend mit dem Einsetzen des Blutungsdruckes ein Verschwinden der Stärke, während gleichzeitig in der Gefäßflüssigkeit Rohrzucker neben anderen Stoffen auftritt. Den zeitlichen Verlauf des Stärkeabbaus haben uns Russow, A. Fischer, Schröder und andere eingehend beschrieben. Wir finden bei ihnen auch eine Analyse der Bestandteile des Blutungs-

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Bonn.

saftes. Zahlreiche Arbeiten geben uns auch gewisse Einblicke in die Intensität des Blutungsvorganges, sowohl in seine tägliche Rhythmik, als auch in seinen Gesamtverlauf während der ganzen Blutungsperiode. Um den Ablauf eines physiologischen Prozesses verfolgen zu können, ist die Kenntnis der Baueigentümlichkeit des Organs, in dem der Vorgang sich abspielt, Voraussetzung. Für die Blutungserscheinung ergibt sich folgendes Bild. Das Wachstum von Sproß und Wurzel eines Baumes vollzieht sich jahresrhythmisch und zwar derart, daß der letztjährige Längenzuwachs zugleich auch einen kegelmantelförmigen Dickenzuwachs am Gesamtholzkörper zur Folge hat. Im Querschnitt zeigt das Holz daher die bekannten Jahresringe, die uns die Grenzen der aufeinander folgenden Zuwachszonen angeben. Aus den gründlichen anatomischen Arbeiten von Hartig, Wieler und Strasburger wissen wir, daß die Wasserbahnen einer Saugwurzel sich in longitudinaler Richtung innerhalb des letzten Jahreszuwachses bis hinauf in den jüngsten Sproßzuwachs fortsetzen. Der Verschiebung des Wassers in radialer Richtung stellen sich dagegen Widerstände entgegen, die in der Lage der Gefäße im Jahresring ihren Ursprung haben. Diese für die Betrachtung der Blutungserscheinungen so wichtigen anatomischen Zusammenhänge haben in früheren Arbeiten nicht eindeutige Erwähnung gefunden.

Stellen wir uns eine Reihe von aufeinanderfolgenden Gefäßen vor, deren Basis in der Wurzel liegt und deren Spitze unterhalb einer Terminalknospe endet. Fällt die Zeit unserer Beobachtung in den November, die Zeit der tiefsten Ruhe für den Baum, so wird das plasmaleere Lumen der Gefäßglieder, das ja als Ganzes ein geschlossenes Kapillarsystem darstellt, mit Wasser gefüllt sein. Die Menge des in den Gefäßen enthaltenen Wassers wird dabei so bemessen sein, daß das Wasservolumen gerade das Gefäßvolumen unter Beanspruchung des Adhäsionszuges an der Wand und des Kohäsionszuges im Innern der Wassersäule ausfüllt. Die dünne Wassersäule hängt sozusagen an den Wänden ausgespannt. Hierbei steigern die unzähligen kleinen Wassermenisken, die in der mit Wasser imbibierten Membran des Gefäßes vorhanden sind, die Intensität, mit der sich das Wasser an der Wand festhält. Vergleichsversuche mit Flüssigkeiten in Glaskapillaren, bei denen eine Durchtränkung der Wand ausgeschlossen ist, vernachlässigen also eine wichtige in dem pflanzlichen Gefäß gegebene Bedingung. In diesem stationären

Zustand, bei dem Adhäsion und Kohäsion die Wassersäule tragen, haben die an die Gefäße grenzenden lebenden Zellen keinen hydrostatischen Druck auszuhalten. Der Zustand ändert sich aber sofort, wenn jetzt an irgendeiner Stelle Wasser in das Gefäß gepreßt wird. Nehmen wir an, daß dieses Einpressen von Wasser durch eine Volumveränderung infolge von Temperaturerhöhung oder der damit einhergehenden Expansion von in toten benachbarten Elementen eingeschlossenen Gasblasen bedingt wird, so wird ein hydrostatischer Druck jetzt auf den die Gefäße umgebenden Zellen lasten.

Bei den Methoden, sich von dem Vorhandensein dieses hydrostatischen Überdruckes zu überzeugen, sind bisher zwei Wege beschritten worden. Man bohrt zu diesem Zweck den Stamm mit einem Zuwachsbohrer in verschiedener Höhe an und versucht entweder Manometer in die Bohrlöcher dicht einzusetzen, um an ihnen den Druck abzulesen, oder man fängt in geeigneten Vorrichtungen den Blutungssaft auf. In meinen Untersuchungen wurde die zweite Methode, aber in modifizierter Form angewandt. In verschiedener Stammhöhe wurden daumendicke Äste unterhalb der vorjährigen Knospenspur gekappt. Der Querschnitt weist demnach an dieser Stelle zwei Jahresringe auf. Diesen Aststümpfen wurden mittels ausgekochter Gummiverbindungen graduierte zylindrische Auffanggefäße lotrecht aufgesetzt. Jeder hydrostatische Überdruck in den Gefäßen der Äste führt zu einem Flüssigkeitsaustritt und Anstieg im Auffanggefäß. Die Untersuchungen erstreckten sich auf die ganzen Blutungsperioden der Frühjahre 1929/30/31. Die Versuchsjahre waren besonders günstig durch ihre klimatischen Gegensätze, der Winter 1928/29 mit fast sibirischen Temperaturen, die beiden anderen typische rheinische Winter ohne langandauernde Frostperioden, aber keinesfalls besonders mild.

Verfolgen wir den Gang der Blutung, so sehen wir, daß anfangs die in größerer Höhe inserierten Äste den ausgestoßenen Blutungssaft nachts wieder einsaugen, was mit der nächtlichen Abkühlung zusammenhängt. Aber bald kommen Tage, an denen unabhängig vom Verlauf der Temperaturkurve sämtliche Äste bis hinab zum Wurzelhals diese Erscheinung des Einsaugens einmal gebluteter Flüssigkeit zeigen. Tagelang erscheint alsdann die Schnittfläche trocken. Bringt man statt des Blutungssaftes eine Lösung von Trypanrot (Verdünnung 1:5000),

die intensiv rot gefärbt ist und deren Wanderweg sich im Holzkörper am anatomischen Präparat gut verfolgen läßt, in das Auffanggefäß hinein, so kann man bei entsprechender Nachfüllung der Farblösung beobachten, wie ein Vielfaches der vorher gebluteten Menge von der Astfläche eingesogen wird. Ja, das Trypanrot läßt sich alsdann bis in die Gefäße der Saugwurzeln hinein verfolgen. Die lebenden Wurzelzellen des Baumes müssen also dem Wasser den umgekehrten Weg aus dem Gefäß heraus freigegeben haben, ihre einseitige Undurchlässigkeit für Wasser ist aufgehoben, und die Gefäßflüssigkeit filtriert, solange noch ein hydrostatischer Überdruck im Gefäß vorhanden ist, durch die umgebenden Zellen hindurch, bis der stationäre Zustand im Gefäß wieder erreicht ist. Der Wasserfaden, den der Gefäßinhalt darstellt, hängt nun wieder an den feinen Wassermenisken in der Membran. Spontan setzt die Blutung alsdann eines Tages wieder ein, wobei aus den Zweigen, die vorher Farbstoff eingesogen haben, lange Zeit noch gefärbter Saft austritt. Diese Perioden des Wassereinpressens und des Öffnens der „Wurzelschleusen" wiederholen sich desto öfter, je länger die Blutungsperiode dauert. Die anatomische Untersuchung der Saugwurzel ergibt zur Blutungszeit, in der der Wurzelwiderstand dem hydrostatischen Überdruck standhält, kaum oder gar keine Stärke in der Wurzelrinde. Stellt der Baum aber die Blutung ein, so tritt in allen lebenden Zellen der Saugwurzel transitorische Stärke auf. Es lag daher nahe, mit plasmolytischen Methoden etwas über die Änderung der osmotischen Verhältnisse der Wurzelgewebe beim Einsetzen und Aufhören der Blutung zu erfahren. Die Zellen lassen sich im Blutungsstadium entweder gar nicht plasmolysieren oder weisen Krampfplasmolyseformen auf. Aus dieser Erscheinung läßt sich auf eine Viskositätssteigerung schließen. Beim Auftreten von transitorischer Stärke lassen sich die Zellen dagegen gut plasmolysieren.

Das Aussetzen und Wiedereinsetzen der Blutung erfolgt bei allen untersuchten Bäumen fast gleichzeitig. Forscht man nach der Ursache dieser Erscheinung, so schalten nach den Ergebnissen meiner Versuchsreihen Änderungen des Feuchtigkeitsgehaltes der Luft und des Bodens, der Temperatur oder des Luftdruckes als bestimmender Faktor aus. So kommt es z. B. vor, daß die Bäume die Blutung 2 Stunden vor dem Einsetzen eines Landregens einstellen. Der Baum reagiert hier auf einen Impuls, der mir bisher verborgen geblieben ist. Vielfach ist als auslösender Faktor für die Blutung das Auftauen

des Holzes nach einer Frostperiode genannt worden (Lepeschkin). Entsprechende Versuche zeigen tatsächlich, daß jedes Auftauen des Holzes zu einer Blutung führt, die sich in ihrem zeitlichen Ablauf aber auf wenige Stunden beschränkt und mit dem tagelangen Bluten während der eigentlichen Blutungsperiode nicht zu verwechseln ist. Das wird noch anschaulicher gemacht durch folgende Versuchsanstellung. Achtjährige Bäumchen, die in Kübeln im Freien gezogen wurden, wurden in ein frostfreies, aber gut durchlüftetes Gewächshaus gebracht und machten die Blutungsphasen dort genau so mit, wie sie die im Freiland stehenden Bäume zeigten.

Neuerdings wird von einigen Forschern die Ansicht vertreten, daß für die Höhe des Blutungsdruckes die osmotische Konzentration der Gefäßflüssigkeit ausschlaggebend ist. Bei dieser Vorstellung werden die Gefäße der Saugwurzel sozusagen als Osmometer betrachtet, die aus den wassergesättigten lebenden Zellen Wasser ansaugen. Da aber die Tageskurve der Blutungsintensität des Ahorns oft ein geradezu sprunghaftes Ansteigen bis zum Maximalwert zeigt, erscheint es schlechterdings unmöglich, daß diese Leistung ohne die Beteiligung lebender Zellen vor sich gehen soll. Aber noch in einem anderen Punkt widersprechen meine Ergebnisse dieser Arbeitshypothese. Der kristallklare und keimarm aufgefangene Blutungssaft wurde auf seinen Zuckergehalt, seine Aschen- und Stickstoffmengen fortlaufend geprüft, um so etwaige Zusammenhänge zwischen der Stoffkonzentration und Blutungsmenge aufzudecken. Hierbei zeigte sich nun, daß je intensiver die Blutung, desto geringer die osmotische Konzentration des Blutungssaftes ist. Bei einem plötzlichen Aussetzen der Blutung weist die Gefäßflüssigkeit dagegen eine Zunahme des Zuckergehaltes auf. Und trotz dieser Zunahme des osmotischen Wertes der Gefäßflüssigkeit ist keinerlei Wasserausscheidung zu beobachten. Besonders wichtig ist das Ergebnis, daß sich ein hoher Gehalt an stärkelösenden Enzymen (Amylase) im Blutungssaft nachweisen läßt.

Im folgenden gebe ich eine kurze Darstellung, in welcher Weise, nach den angeführten Ergebnissen am angeschnittenen Holzkörper zu schließen, sich die Verhältnisse im intakten unverletzten Stamm wahrscheinlich abspielen. Wir verfolgen dabei am besten wieder eine jener wasserführenden Gefäßkapillaren, die zwischen Saugwurzel und Sproßspitze im Holzkörper eingeschlossen liegen. Das Einsetzen

der Blutungstätigkeit fällt in der Wurzel mit einer Viskositätssteigerung des Plasma der die Gefäße umgebenden lebenden Zellen zusammen. Alles Wasser, das entweder passiv auf osmotischem Wege (die Gefäßflüssigkeit enthält ja osmotische Substanzen in Lösung) oder aktiv durch Einpressung aus lebenden Zellen in das Gefäß hineingelangt, wird, da ein Entweichen durch die Wurzelrinde infolge des Plasmawiderstandes verhindert ist, einen hydrostatischen Druck im Gefäß erzeugen. Dieser Druck wird sich für alle mit dem Gefäß Wand an Wand liegenden toten Elemente des Holzes dahin auswirken, daß Wasser in sie unter Druck eingepreßt wird. Bei den lebenden, dem Gefäß benachbarten Zellen wird es dagegen darauf ankommen, inwieweit das Plasma dem Wasser den Durchtritt gestattet. Ein plötzliches Nachlassen des Wurzelwiderstandes, wie es tatsächlich zu beobachten ist, hat für die Gefäßflüssigkeit den Übergang in den stationären Zustand zur Folge; hierbei entweicht etwa überschüssiges Wasser durch die Wurzel. Das, was sich hierbei im Holz abspielt, können wir ins Bildliche übertragen, indem wir die Phase des Hinaufpressens mit der Aufwärtsbewegung des Druckkolbens einer Maschine vergleichen. Durch dieses Einpressen wird eine weitgehende Wasserdurchtränkung erreicht. Andere Versuche, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll, zeigten, daß die Zuführung von Amylase oder einem im Blutungssaft vielleicht vorkommenden fermentaktivierenden Stoff in den lebenden Holzelementen eine beschleunigte Auflösung der reichlich vorkommenden Speicherstärke zur Folge hat.

Da der Druckanstieg an der Peripherie des Stammes erfolgt, wird der jüngste Jahresring die beste Wasserdurchtränkung aufweisen, was für die spätere Bewältigung des Transpirationsstromes nach dem Austreiben der Blätter von großer Wichtigkeit ist.

Die Frage, inwieweit nun die Blutung im intakten Stamm wirklich zu einem Stofftransport in die höher gelegenen Stammteile führt, wurde auf folgende Weise zu beantworten gesucht. Das an der Leitung des Blutungssaftes beteiligte Gefäßvolumen wurde durch genaue Leitflächenbestimmungen ermittelt. Ein Vergleich der Wassermenge, die dem Anstieg des Wassergehaltes im Holz während der Blutungsperiode entspricht, mit dem ermittelten Wasservolumen der leitenden Gefäße, zeigt, daß eine intensive Wanderung der Gefäßflüssigkeit stattfinden muß. Welche Leistung die Blutung für den

kommenden Jahresring vollbracht hat, kann man ermessen, wenn man den Wassergehalt des Holzes im November mit 44% des Frischgewichtes dem z. B. des Austreibens mit fast 70% gegenüberstellt. Die Gefäßflüssigkeit ändert sich von fast reinem Wasser im November bis zum April zu einer Nährlösung, die reich an Zucker und Stickstoffverbindungen ist. Die austreibenden Knospen und das einsetzende Dickenwachstum des Holzes finden also alle für den Zellaufbau notwendigen Stoffe in einer leicht zugänglichen Wanderbahn vor, die im Sommer nach unserer Kenntnis für die Leitung organischer Substanzen nicht in Frage kommt.

IV

Stickstoff-Stoffwechsel

1. Nitratumsatz und -speicherung in höheren Pflanzen[1])

Von Wilhelm Ruhland

Schon längere Zeit ist bekannt, daß die Organe gewisser höherer Pflanzen in sehr verschiedenem Maße Nitrate enthalten. Man hat von „nitratspeichernden“ Pflanzen gesprochen, zu denen unter unseren landwirtschaftlichen Kulturpflanzen z. B. der Weizen, die Salatpflanze, die Tomate, Sonnenblume, Zucker- und Futterrübe, der Mais u. a. mehr gehören. Unter den freilebenden gehören insbesonders viele krautige Pflanzen aus den Familien der Amaranthazeen, Chenopodiazeen, Solanazeen und Urtikazeen hierher. Man glaubte früher (Treub 1904, Menaul noch 1921), daß die Pflanze das aufgenommene Nitrat bei Belichtung mit Formaldehyd zu Blausäure und diese dann weiter zu Aminosäuren, den bekannten Eiweißbausteinen verarbeite. Eine andere Theorie bestand darin, daß in der Pflanze Nitrate zunächst zu Nitriten reduziert würden, die dann (Baudisch 1911, 1914) mit Formaldehyd Formhydroxamsäuren ergeben sollten. Aber auch diese Theorie konnte sich nicht halten, da es bald (Warburg und Negelein 1920) gelang, Ammoniak als Reduktionsprodukt von Nitraten bei der Alge Chlorella nachzuweisen. Während dieser Reduktion machte sich erhöhte CO_2-Bildung (neben Atmungs-CO_2 noch „Extra“-CO_2) bemerkbar, was auf die Beteiligung organischer Stoffe, etwa Kohlenhydrate, an der Reduktion hinwies. Nachdem dann auch gleichzeitig die Fähigkeit, Nitrate sowohl wie Nitrite zu NH_3 zu reduzieren, bei Pilzen gefunden worden war (Kostytschew), gelang es schließlich (Eckerson 1924), auch bei höheren Pflanzen, NH_3 als Zwischenprodukt der Nitratreduktion nachzuweisen.

W. Dittrich[1]) hat diese Nitratreduktion in höheren Pflanzen nach einigen Richtungen hin genauer untersucht. Für die quantitative

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Leipzig.

[2]) Werner Dittrich: „Zur Physiologie des Nitratumsatzes in höheren Pflanzen (unter besonderer Berücksichtigung der Nitratspeicherung)“. Planta XII, 1930, S. 69.

Bestimmung von Nitrat dienten sehr genaue, teilweise neue kolorimetrische Methoden sowie solche, bei denen Nitrat und Nitrit zu NH_3 reduziert werden und dieses titrimetrisch bestimmt wird. Da die Methoden sehr zeitraubend sind und relativ viel Material erfordern, mußte die Zahl der Versuche leider sehr beschränkt bleiben.

Die Versuche des Verf. zielten zunächst auf die Feststellung der Nitratverteilung ab. Ein Maß für den Nitratverbrauch in den Organen der nitratreichen Weizenpflanze wurde so gewonnen, daß der zunächst normal ernährten Versuchspflanze von einem bestimmten Zeitpunkt an kein N mehr zugeführt wurde, so daß das gespeicherte Nitrat angegriffen und allmählich verbraucht werden mußte. Sodann wurde die Einwanderung und Verteilung neuen Nitrates beobachtet. Es zeigte sich, daß die Nitratabnahme in allen Organen ziemlich gleichmäßig ist, doch enthält der Stengel auch nach 10 Tagen N-Hungers pro Frischgewicht noch das meiste Nitrat. Auch steigt bei erneuter Darbietung desselben der Gehalt in ihm besonders steil an, so daß er das Hauptspeicherorgan des Weizens darstellt. Für die Frage nach dem Einfluß des Alters auf den Nitratgehalt wurden die großen Blätter der Sonnenblume (Helianthus annuus) benutzt. Er nahm mit dem Blattalter zu. An einem anderen Beispiel, den dazu besonders geeigneten (Zucker-)Rüben, wurde die Nitratverteilung in den einzelnen Teilen des gleichen Organes untersucht. Der Gehalt stieg in der Reihenfolge: Hypokotyl, Nebenwurzelregionen, dazwischen liegende sog. „Backen“, Inneres an. Da die dem letzteren entsprechenden Cambium-Zonen älter sind als die Backen und Wurzelregion, zeigt sich auch hier also der gleiche Alterseinfluß wie beim Sonnenblumenblatt.

Erklärt sich nun dieses bunte Bild — Verschiedenheiten im Gehalt der verschiedenen Organe derselben Pflanze, in gleichen Organen verschiedenen Alters, in den einzelnen Teilen eines bestimmten Organs — aus einer entsprechenden Verschiedenheit der Fähigkeit, Nitrate zu reduzieren? Ein Maß dieser Reduktionsfähigkeit wäre am besten durch eine Messung der sog. Redoxpotentiale zu gewinnen, doch mußte leider hiervon wegen vieler entgegenstehender Schwierigkeiten Abstand genommen werden. Statt dessen wurde nach dem Vorgang Eckersons die Nitratreduktion und Nitritbildung in Pflanzenextrakten und -preßsäften untersucht, die wohl einen Rückschluß auf das Verhalten der intakten Pflanzenteile erlauben. Übereinstimmend mit Eckerson (Tomatenextrakte) fand Dittrich an Futterrübenpreßsaft

das Optimum der Nitratreduktion bei $p_H = 7.6$, also ganz schwach alkalischer Reaktion. Die Reduktion war nach etwa 45 Stunden stets beendet. Daran knüpften sich nun einige Versuche mit toluolisierten Preßsäften bei 21° C, die mit NaOH auf den gewünschten p_H-Wert eingestellt waren und denen im Bedarfsfalle KNO_3, meist bis zur Verdoppelung des ursprünglichen Gehaltes zugesetzt waren. Dabei war eine Reoxydation von Nitrit durch Luft-O_2 auszuschließen. So konnte z. B. in der (nitratarmen) Salatpflanze (Lactuca sativa) eine stärkere Reduktion im Blatt als im Stengel gefunden werden, das gleiche übrigens auch für einige andere Pflanzen von verschiedenem natürlichem Nitratgehalt. Dabei reduzierte der Preßsaft der nitratreichsten Pflanze (Impatiens parviflora) am schwächsten und umgekehrt. Zu bedenken ist aber hier die Abhängigkeit der Reduktion von den Reaktionsbedingungen: Die H-Jonenkonzentration, wenn auch ursprünglich gleich gemacht, steigt während der Autolyse durch andere Umsetzungen gewöhnlich an, so daß die Reduktion abnimmt, ebenso wirkt steigender Nitritgehalt, also Ansammlung eines Zwischenprodukts schon entsprechend dem Massenwirkungsgesetz verzögernd, wie auch besondere Nitritzugabe lehrt.

Bei der Nitratreduktion durch Schimmelpilze ist nach Kostytschew ein in die Nährlösung von diesen ausgeschiedenes Enzym beteiligt. Der im Frühjahr aufsteigende Saftstrom, z. B. der Birke, könnte ein geeignetes Material für Prüfung der Verhältnisse in höheren Pflanzen abgeben. Die Untersuchung zeigte, daß er kein Reduktionsvermögen besitzt. Dagegen zeigte ein weiterer Versuch mit Rübenpreßsäften, daß dieses an die Oberflächen fester Phasen geknüpft sein dürfte: in zentrifugiertem Preßsaft wirkt das (auch noch filtrierte) Zentrifugat im Vergleich zum Rückstand bedeutend geringer auf KNO_3, vielleicht überhaupt nur, weil die Partikel nur unvollkommen abzutrennen waren. Es dürfte sich somit um eine Katalyse an Oberflächen handeln, die — da eine 10^{-4} mol HCN-Lösung die Reduktion in allen Fällen unterband — wohl Fe-Jonen enthalten müssen.

Eine alte Streitfrage betrifft die Notwendigkeit von Licht für die vitale Nitratreduktion. Am Weizen wurde während einiger Tage 3stündig der Nitratgehalt verfolgt. Es zeigte sich eine Abnahme desselben während der Bestrahlung und eine entsprechende Abhängigkeit von der Bestrahlungsintensität (wolkenloser bzw. bedeckter Himmel). Sonnenblätter sind nitratärmer als die Schattenblätter der gleichen Pflanze (z. B. Weißbuche, Holunder). Nitrit (gehemmte

Reduktion) ist nur in künstlich verdunkelten Blättern nachweisbar.

Dieser die Reduktion somit deutlich fördernde Einfluß des Lichts kann ein direkter oder, infolge Zusammenhanges mit anderen Stoffwechselvorgängen (Eiweißsynthese u. a.), indirekter sein. Da letztere nicht völlig abzutrennen sind, wird eine eindeutige Entscheidung kaum möglich sein. Ernährung abgeschnittener nitratreicher Pflanzen (Atriplex, Urtica) mit Lösungen verschiedener Zucker brachte, wie zu erwarten war, das Nitrat nach 1—2 Tagen zum Verschwinden. Gespeichertes Nitrat wird also verbraucht, wenn genügend Kohlehydrate zur Verfügung stehen. Ein Teil der Pflanzen war während des Versuches belichtet, ein anderer verdunkelt. Ein reduktionsfördernder Lichteinfluß trat hierbei nicht hervor.

In vitro ist ein Einfluß ultravioletter Strahlen auf die Nitratreduktion (Thiele, Warburg) festgestellt worden. Vergleichende Versuche unter UV-durchlässigem („Ultravit")- und gewöhnlichem Glase zeigten, daß die Pflanzen (Futterrüben, Saubohnen, Mais) unter ersterem, bezogen auf Frischgewicht, durchweg weniger Nitrat enthalten, im übrigen verlaufen die Tageskurven für beide Serien parallel. Bei besonders kräftiger UV-Strahlung ist die Herabsetzung des NO_3-Gehaltes sogar bis in die Wurzeln verfolgbar.

Auffällig war ein meistens deutliches Ansteigen des Nitratgehaltes in den Morgenstunden, während eine Abnahme wegen beginnender Belichtung und CO_2-Assimilation erwartet werden sollte. Eigenartigerweise zeigte sich, daß dieser Anstieg zweifellos mit der beginnenden Transpiration zusammenhängt. Wird diese in geeigneter Weise herabgesetzt, so fehlt er oder ist (beim Weizen) wesentlich geringer. Z. T. läßt sich die Erscheinung vielleicht mit gehemmter Aufnahme neuen Nitrats und mangelnder Verteilung desselben in der Pflanze durch den Transpirationsstrom erklären. Da die Transpiration (Maispflanzen) unter Ultravit- und gewöhnlichem Glase gleich groß war, bleibt für den oben erwähnten Versuch die Möglichkeit direkter UV-Wirkung bestehen.

Worauf die Eigentümlichkeit der regelmäßigen Nitratspeicherung ganz bestimmter Pflanzenarten zurückzuführen ist, hat auch Dittrich nicht erklären können. Sie zeigen diese Eigentümlichkeit nicht nur auf nitratreichen, sondern auch auf gewöhnlichen Böden. Ihr Reduktionsvermögen dürfte geringer sein als dasjenige anderer, wofür ins-

besondere ihr stets auch höherer Nitritgehalt ins Treffen zu führen wäre, der wieder in dem am ausgesprochensten speichernden Stengel besonders groß ist. In besonderen Fällen mögen zur Eiweißsynthese geeignete Kohlehydrate mangeln: Ernährung mit solchen (Glukose, Fruktose, viel weniger geeignet Rohrzucker), bringt das gespeicherte Nitrat zum Verschwinden, die inneren stark speichernden (älteren) Kambiumzonen der Zuckerrübenwurzel enthalten praktisch ausschließlich Rohrzucker, Invertase ist in ihnen nicht nachweisbar, die äußeren Zonen enthalten Invertase (Ruhland) und speichern viel schwächer. Sehr unerwartete, auf indirekte Zusammenhänge unbekannter Art weisende Beziehungen fand Dittrich zwischen der durchschnittlichen H-Ionenkonzentration und dem durchschnittlichen Nitratgehalt der von ihm untersuchten Pflanzen: je niedriger die erstere, desto größer die Speicherfähigkeit, trotz des bei schwach alkalischer Reaktion liegenden Optimalpunktes der Reduktion! Für die Praxis endlich mag die Feststellung der besonderen Schädlichkeit der ausschließlichen N-Darbietung in Form von Ammonsalzen auf nitratspeichernde Pflanzen von Bedeutung sein.

2. Untersuchungen über die Entstehung des Allantoins in der Pflanze[1])

Von Wilhelm Ruhland

Der Eiweißstoffwechsel der Pflanze ist, nachdem aus den Untersuchungen früherer Jahrzehnte vorwiegend nur die Vorgänge bei der Keimung eiweißreicher Samen bekannt geworden waren, neuerdings auch in der älteren Pflanze, besonders auch in ihren vegetativen Organen eifrig studiert worden, so daß wir heute in das gröbere physiologische Geschehen auf diesem Gebiete einen gewissen Einblick haben, so außerordentlich viel hier auch noch in biochemischer Beziehung zu tun bleibt.

Um so unbekannter war eine andere mit dem Eiweiß verknüpfte Stoffwechselsphäre geblieben, die wir hier kurz als den Nukleinstoffwechsel bezeichnen wollen. Wir kennen aus dem Tierreich eine größere Anzahl von Aufbau- und Spaltungsprodukten der Nukleinsäure, die in proteidischer Bindung als Nuklein die wichtigste Zellkernsubstanz darstellt. Solche Aufbau- und Spaltprodukte, wie die sog. Purinbasen, sind auch in höheren Pflanzen aufgefunden worden, und es gehören zu ihnen manche Alkaloide, wie das Koffein, Theobromin und Theophyllin, also Stoffe, die ein hervorragendes, nicht nur pflanzenphysiologisches Interesse beanspruchen dürfen. Schon wegen dieser Stoffe, nicht minder aber auch wegen der oben angedeuteten physiologischen Zusammenhänge mit der Zellkernsubstanz mußte man unsere bisherige völlige Unkenntnis auf dem Gebiete des pflanzlichen Nukleinstoffwechsels sehr bedauern. Wesentlich besser sind wir über die analogen Erscheinungen im Tierkörper unterrichtet, welcher der Untersuchung freilich auch nicht solche Schwierigkeiten bietet wie derjenige der Pflanze.

Für die Untersuchung bietet es manche Vorteile, beim ersten Versuch, in ein unbekanntes Stoffwechselgebiet einzudringen, das ganze Augenmerk auf einen einfacheren, zu ihm gehörigen Stoff

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Leipzig.

zu konzentrieren. Ein solcher war in dem Allantoin gegeben, der vielfach im Blut und Harn von Säugetieren nachgewiesen, aber schon 1881 von E. Schulze und Barbieri auch aus Pflanzen isoliert worden war. Vom Tierkörper wissen wir, daß in ihm das Allantoin bei der Oxydation der Harnsäure entsteht, also bei den betr. Säugetieren das Endprodukt des gesamten Purinstoffwechsels darstellt.

Um die Entstehung des Allantoins in der Pflanze zu erforschen, war eine zuverlässige quantitative Methode seiner Bestimmung unerläßlich. Die für den Tierkörper mit Erfolg verwendete Fällungsmethode mit Silber und Quecksilbersalzen kam für Pflanzen nicht in Betracht, weil hierbei auch die in diesen weit verbreiteten Säureamide ausfallen. Purucker[1]) fand schließlich nach vielen vergeblichen Versuchen eine indirekte Methode, bei welcher das Pflanzenmaterial nach der Enteiweißung mit verdünnten Säuren gekocht wird. Als Diureid der Glyoxylsäure wird das Allantoin dabei in Glyoxylharnstoff und Harnstoff gespalten, von denen der erstere nicht weiter verändert, der letztere dagegen im Moment der Abspaltung in Ammoniak und Kohlendioxyd weitergespalten wird. Wenn die Säurehydrolyse zeitlich (je 2 bzw. 10 Stunden) genau differenziert wurde, so wurden von dem Gesamt-N der Amide und des Allantoins ganz bestimmte Beträge als NH_3 abgespalten, also zwei Gleichungen für den Amid- und Allantoin-N gefunden, aus denen die Gesamtbeträge des letzteren berechnet werden konnten. Die Anwendung der Methode erforderte solche Versuchspflanzen, in denen nicht andere (wie namentlich Harnstoff), ebenfalls bei diesem Verfahren NH_3 abspaltende Körper vorkommen. Es wurden hauptsächlich deshalb die Platane (Pl. orientalis) und der Boretsch (Borago officinalis), also eine krautige und eine Holzpflanze, gewählt.

Zur Entscheidung der Frage, ob das Allantoin in der Pflanze durch Synthese oder auf dem Wege des Abbaus aus andern Körpern entsteht, dienten Narkoseversuche mit Chloroform. In der Narkose werden nach unsern bisherigen Kenntnissen synthetische Vorgänge gehemmt. So zeigten Boragokeimlinge in der Tat einen Stillstand der Amidsynthese, während die Allantoinbildung fast ungehemmt wie unter normalen Bedingungen weiterging, also offenbar durch

[1]) H. Purucker: „Untersuchungen über die Entstehung des Allantoins in der Pflanze". (Planta XVI, 1932, S. 277—331.)

Abbau erfolgte. Die geringe Hemmung wurde dadurch erklärt, daß die Bildung der Muttersubstanzen des Allantoins auf synthetischem Wege stattfindet, also ihrerseits der narkotischen Hemmung unterliegt, so daß zur Allantoinbildung weniger davon zur Verfügung steht.

Zur Ermittlung dieser Muttersubstanzen können Bilanz- und Ernährungsversuche dienen. Wurden Boretschkeimlinge verdunkelt, so zeigte sich im Gegensatz zu den übrigen N-Fraktionen eine beträchtliche Abnahme nur beim sog. „Rest-N", d. h. den bei der Eiweißfällung gelöst bleibenden N-Verbindungen, die nach Abzug des NH_3 und Amid-N übrig bleiben, also den N der Aminosäuren, organischen Basen usw. umfassen. Dieser verschwundene Rest-N geht zum größten Teil in Allantoin-N über. Unter den verschiedenen, als Rest-N zusammengefaßten Verbindungen wies die tierphysiologische Parallele vor allem auf die sehr charakteristischen, physiologisch wichtigen sog. Purine, heterozyklische Verbindungen, deren „Kern" aus 5 C- und 4 N-Atomen besteht, wobei 2 ringförmige Gruppen mit 2 gemeinsamen Gliedern hervortreten; ferner kamen möglicherweise noch die am Eiweißaufbau beteiligten sog. Hexonbasen, insbesondere das unter ihnen vorwiegende Arginin in Betracht, doch ergaben die Bilanzen dafür keine Unterlage, wohl aber eindeutig für die Purine.

Es lag somit nahe, die Verknüpfung der Allantoinbildung mit dem Purinabbau dadurch zu prüfen, daß lebende Pflanzen (Platanenzweige mit jungen Trieben) von außen her mit Purinstoffen (Guanin, Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure) unter Ausschaltung von Mikroorganismen, also steril, ernährt wurden. Ein solcher Versuch zeigte z. B. nach 10 Tagen eine Vermehrung des Allantoingehaltes der Zweige und besonders im Dunkeln, einen beträchtlichen, in Prozent ausdrückbaren Abbau des aufgenommenen Purin-N, der in der soeben genannten Reihenfolge der verwendeten Purinstoffe, also in derjenigen, in der man sich den stufenweisen Abbau derselben vorzustellen hat, anstieg, m. a. W. bei der Harnsäure am größten war, in der man wohl auch in der Pflanze wie im Tierkörper die unmittelbare Muttersubstanz des Allantoins zu sehen hat. Deutlich trat, wie auch schon in den Bilanzversuchen, hervor, daß nicht der gesamte Purin-N in Allantoin übergeht.

Die Natur der Allantoinentstehung aus den Purinen muß nach unsern chemischen und tierphysiologischen Kenntnissen wohl auch bei

Pflanzen in einer Oxydation bestehen. Die Allantoinbildung in lebenden Boretschkeimlingen, von denen die einen sich im O_2-freien Raum, die andern in Luft befinden, ist in der Tat bei ersteren stets kleiner, doch ist der Unterschied nur gering. Das gleiche zeigen analoge, nicht mit lebendem, sondern zu Brei zerriebenem und mit Toluol versetztem Material angestellte („Autolyse"-)Versuche. Es handelt sich demnach um einen fermentativen Vorgang, der aber nicht eine echte, also freien O_2 erfordernde Oxydation darstellt, sondern um eine, bei Anwesenheit von H-Akzeptoren, auch unter O_2-Ausschluß erfolgende sog. Oxydoreduktion. Es konnte in der Tat mit Hilfe sog. Thunberg-Röhrchen nachgewiesen werden, daß wie im Tierkörper auch in der Pflanze sog. Purindehydrasen wirksam sind und im Boretsch ein rotbraunes, als H-Akzeptor fungierendes Pigment. Da nun die oben bei den Ernährungsversuchen genannte und als unmittelbare Muttersubstanz des Allantoins angesprochene Harnsäure niemals, auch von Purucker nicht, in Pflanzen hat nachgewiesen werden können, obwohl sie bei der Oxydation der Aminopurine, des Heteroxanthins und Xanthins zu Allantoin entstehen muß, so lag es nahe, die Ursache hierfür in der sofortigen Dehydrierung der jeweils entstehenden Harnsäure durch das Ferment Uricase zu suchen, das demnach die für die Allantoinbildung wichtigste Purindehydrase darstellen würde und in der Tat in Pflanzen nachgewiesen werden kann.

Wie oben bei den Bilanzversuchen erwähnt, war die als Oxydationsprodukt aufgetretene Allantoinmenge geringer als nach der Abnahme des Purin-N erwartet werden mußte. Andrerseits hatte sich bei den ebenfalls schon erwähnten Ernährungsversuchen, z. B. mit Harnsäure, gleichzeitig mit der Vermehrung des Allantoin-N, eine ebensolche für NH_3 (und Amid-N) gezeigt, die nur durch eine NH_3-Bildung bei der Harnsäurezerlegung erklärlich war, so daß also durch diesen Vorgang die Allantoinausbeute vermindert wird. Purucker vermutete, daß bei der Harnsäureoxydation intermediär Harnstoff entsteht, der z. T. durch das bekannte, in Pflanzen weitverbreitete Ferment Urease in NH_3 und CO_2 zerlegt, also seiner Weiterverarbeitung zu Allantoin entzogen wird. Das konnte folgendermaßen wahrscheinlich gemacht werden: Sauerstoff wirkt auf Urease hemmend, begünstigt aber die Allantoinbildung, so daß bei reichlicher O_2-Zufuhr das Verhältnis Allantoin-N : NH_3-N erheblich größer als im O_2-freien Raum sein müßte, was in der Tat ein autolytischer Versuch mit

zerriebenem und mit Harnsäurelösung versetzten Boretschkeimlingen sehr augenfällig zeigte. Ein andrer Weg, der zum gleichen Ziel führte, war der, daß in ähnlichen Versuchen die H-Ionenkonzentration verändert wurde. War diese für die Ureasewirkung optimal ($p_H = 7{,}5$), so wurde der größte N-Betrag dem allantoinbildenden Vorgang entzogen. Es liegt in der Pflanze also eine Art Konkurrenz zwischen zwei Enzymen, der Urease und der Uricase, vor, die im Urease-freien Tierkörper fehlt, so daß in diesem die gesamte Harnsäure zu Allantoin oxydiert werden kann.

Die Oxydation der Harnsäure mit chemischen Mitteln (H_2O_2, $KMnO_4$ usw.) führt nur bei neutraler oder alkalischer Reaktion des Mediums zum Allantoin. Das gleiche gilt für die biologische Oxydation: Die Uricase hat wie andere Purindehydrasen (z. B. Xanthinoxydase) ein Optimum bei schwach alkalischer Reaktion. Bei hoher Azidität ist der Harnsäureabbau nur gering. Es konnte von Purucker nachgewiesen werden, daß sich unter den allantoinführenden Pflanzen keine ausgesprochene „Säure"pflanze befindet. Auch Kohlenhydratmangel, der z. B. durch Verdunklung hervorgerufen wird und sonst die Allantoinbildung verstärkt, ruft in Säurepflanzen keine Allantoinbildung hervor, während Pflanzen mit geringerer Azidität des Zellsaftes Allantoin enthalten. Dieser Zusammenhang zwischen Azidität und Allantoingehalt trat auch bei systematisch verwandten Pflanzen (untersucht wurden die Geraniaceen) hervor: Arten mit kleiner H-Ionenkonzentration der Zellsäfte hatten höheren, solche mit größerer geringeren Allantoingehalt.

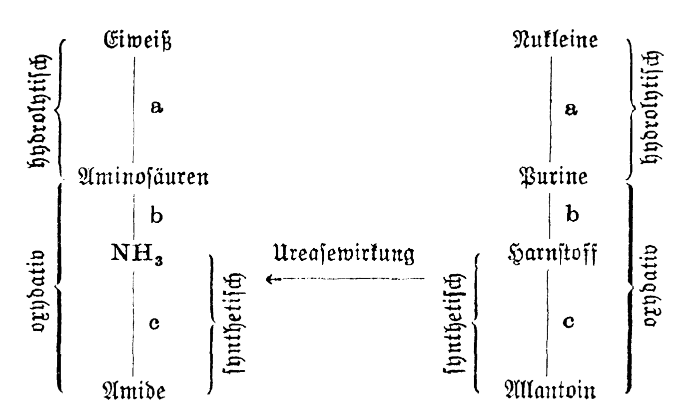
Säurepflanzen häufen nun (vgl. Deutsche Forschung, Heft 8, 1929, S. 40ff.) auch keine Amide (Asparagin, Glutamin) an, sie sind gleichzeitig „Ammoniakpflanzen". Die Allantoinpflanzen gehören dem 2. Typus, den „Amidpflanzen", an. Diese beiden, von Ruhland und Wetzel herausgestellten physiologischen Typen der höheren Pflanzen unterscheiden sich also in der Art der Entgiftung des Endproduktes des N-Stoffwechsels, des NH_3; bei den Säurepflanzen wird es als Ammonsalz organischer Säuren, bei den letzteren als Säureamid unschädlich gemacht. Auch im tierischen Stoffwechsel spielt diese Rolle meist ein Amid, der Harnstoff; bei Insekten, Vögeln und Reptilien dagegen fällt sie der Harnsäure zu, und es war somit zu prüfen, ob Analoges nicht auch für den Pflanzenkörper zu gelten habe, in welchem wir an Stelle der, wie oben gezeigt, in ihm nicht beständigen

Harnsäure ihr stabilisiertes Produkt, das Allantoin, zu setzen hätten. Obwohl manche beobachteten Erscheinungen, so z. B. die oben mehrfach berührte Gleichzeitigkeit von Eiweißabbau (Dunkelversuch) und Allantoinbildung für diese Auffassung zu sprechen schienen, ließ sich jedoch eindeutig durch Zufuhr von Ammonsalzen zu lebenden Pflanzen beweisen, daß das Allantoin in diesen die Rolle als NH_3-Entgifter ebensowenig spielt wie der Harnstoff, dessen Diureid die unmittelbare Muttersubstanz, die Harnsäure, ja darstellt. Denn bei diesen Versuchen wurde das Allantoin nicht oder nur unwesentlich, die Säure-Amide aber beträchtlich vermehrt, die demnach allein die fragliche Funktion ausüben.

Unmittelbare Beziehungen zum abbauenden Eiweißstoffwechsel hat das Allantoin also jedenfalls nicht. Es zeigte sich aber weiter, daß solche auch zur Eiweißsynthese fehlen, denn, obwohl diese z. B. in älteren Voretschkeimlingen lebhaft überwiegt, bleibt das Allantoin dabei unangegriffen. Dieses gehört vielmehr, wie obige Ausführungen eindeutig zeigen, einer anderen Stoffwechselsphäre, dem Metabolismus der Purinstoffe oder besser Nukleine an, aus denen die Purine ihrerseits durch Abbau hervorgehen. Nun hatten zwar die Bilanzversuche an Voretschkeimlingen ergeben, daß eine für die ausgiebige Allantoinbildung genügende Menge von Purinen in den Samen nicht vorgebildet war. Deshalb könnte man versucht sein, den zeitlichen Zusammenhang zwischen Allantoinbildung und Eiweißabbau so zu deuten, daß letzterer zum Aufbau der ja N-haltigen Purine die Bausteine liefere. Indessen ließ sich bei austreibenden Platanensprossen dieselbe Gleichzeitigkeit beider Prozesse nachweisen, obwohl es vorgebildete Purine sind, die dem Abbau zu Allantoin anheimfallen. Die Parallelität der beiden Vorgänge ist daher wohl nur durch die Wirkung gemeinsamer fördernder Faktoren wie Kohlenhydratmangel und lebhaftes Wachstum zu erklären. Dieser zeitliche Zusammenhang zwischen Purin- (Nuklein-) und Eiweißabbau kommt oft auch in der Gleichzeitigkeit von Allantoin- und Amidanhäufung zum Ausdruck, die schon älteren Autoren (so Schulze und Boßhard) bekannt war und zu irrigen Schlüssen auf gleichartige Beziehungen beider Vorgänge zum Eiweißabbau veranlaßte. Stattdessen darf man offenbar den Amiden und dem Allantoin nur eine analoge Stellung in zwei verschiedenen Stoffwechselsphären zuweisen: Wie erstere in gewissem Sinne stabilisiertes Endprodukt des Eiweißabbaues sind, stellt das Allantoin ein ebensolches für den Purinabbau dar. Bei beiden

ist ferner gegenüber ihren Muttersubstanzen die Löslichkeit in Wasser erhöht, sie eignen sich gut für Translokationen, und in der Tat sind gleicherweise die Amide, und, wie Versuche mit austreibenden Roßkastanienzweigen einwandfrei zeigten, das Allantoin an Stoffwanderungen in der Pflanze lebhaft beteiligt. In den Säurepflanzen, in denen Allantoinbildung nicht möglich ist, wie in Acer Negundo, wurde nur Harnstoff gefunden. Der Purinstoffwechsel dürfte also in solchen Pflanzen statt zum Allantoin zum Harnstoff führen, wie in den gleichen Pflanzen im Eiweißstoffwechsel die Amide als N-Speicherformen durch NH_4-Salze vertreten werden.

So können wir die mannigfachen Analogien zwischen Eiweiß- und Nukleinstoffwechsel etwa im folgenden Schema nach Purucker veranschaulichen, dessen genauere Diskussion hier jedoch zu weit führen würde:



Da die pflanzlichen Nukleine hauptsächlich im Zellkern deponiert sind, könnte man wohl den Nukleinstoffwechsel als den N-Stoffwechsel der Zellkerne ansehen, dem dann der gewöhnliche des Plasmas gegenüberstehen würde. Ob der Nukleinstoffwechsel wirklich selbständig und nur im Zellkern verläuft, wissen wir nicht, einige Beobachtungen, so Purinsynthese bei gleichzeitiger intensiver Eiweißhydrolyse in Boretschkeimlingen einerseits und Synthesen im Zellkern hungernder und im Plasmaabbau begriffener Paramaecien (Wallengren) andrerseits lassen es als möglich erscheinen.

Die Intensität des Nukleinstoffwechsels ist auch bei verwandten Pflanzen sehr verschieden und kommt in deren sehr verschiedenem

Allantoingehalt zum Ausdruck, der allerdings auch noch von dem bisher ganz unerforschten Allantoinabbau abhängt. Auch braucht der Nukleinabbau nicht immer notwendig zu einer entsprechenden Allantoinvermehrung zu führen, da die Mannigfaltigkeit der pflanzlichen Purinkörper außer den direkten Abbauprodukten des Nukleins (Adenin, Guanin, Hypoxanthin und Xanthin) namentlich noch methylierte Purine wie das Koffein umfaßt, das höchstwahrscheinlich auch im Nukleinstoffwechsel entsteht und genau wie das Allantoin im Dunkeln weit intensiver als im Licht gebildet wird. Koffein dürfte somit das Allantoin vertreten.

3. Über die Lokalisation der Eiweißbildung in grünen Blättern[1])

Von Walter Schumacher[2])

Die Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel der Pflanzen, über die an dieser Stelle schon mehrfach berichtet wurde, werden ganz außerordentlich erschwert durch den Mangel an wirklich spezifischen Eiweißreagentien. So lange man in der Lage ist, mit größeren Substanzmengen zu arbeiten, vermögen unsere vorhandenen quantitativen Methoden einen tieferen Einblick zu vermitteln. Sowie es sich aber darum handelt, zellphysiologische Fragen zu klären, ist man genötigt, zu den qualitativen Eiweißreagentien zurückzugreifen, deren Ausdeutung die größte Vorsicht erfordert. So war aus den Arbeiten der letzten Jahre immer deutlicher hervorgegangen, daß die grünen Laubblätter Stätten eines intensiven Eiweißstoffwechsels darstellen, und es war die Ansicht geäußert worden, daß in den Blattzellen gewisse Zentren der Eiweißbildung existieren, ganz ähnlich wie ja auch die Kohlehydrate im Prozeß der Photosynthese in besonderen Zellorganen gebildet werden. Ja, diese beiden Produktionsstätten der für das Leben wichtigsten Stoffgruppen sollten identisch sein, Eiweiß sowohl wie Stärke sollten in den sog. Chloroplasten, den Trägern des grünen Blattfarbstoffes, erzeugt werden. Die Grundlage für diese Ansicht bildeten nun die kräftigen Färbungen, die man an den Chloroplasten mit manchen Eiweißreagentien erhält sowie die Beobachtung, daß diese Körper bei einem Stickstoffmangel der Pflanzen sehr klein bleiben, bei reichlicher Stickstoffzufuhr jedoch beträchtliche Größe annehmen.

Anläßlich anderer Studien waren mir jedoch an der Berechtigung dieser Annahmen, die für das gesamte Assimilationsproblem von Be-

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Bonn.

[2]) Schumacher, W., Über die Beziehungen zwischen Eiweißgehalt und Chloroplastengröße in den Blättern von Pelargonium zonale. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 70, 1929; S. 389.

deutung waren, Zweifel aufgetaucht, und es wurde daher versucht, die Methodik der quantitativen Eiweißbestimmung soweit zu verfeinern, daß sie auch zur Entscheidung einer solchen zellphysiologischen Frage herangezogen werden konnte, um damit den Unsicherheitsfaktor qualitativer Farbreaktionen auszuschalten. Es gelang, die zu einer exakten Eiweißbestimmung notwendige Frischgewichtsmenge bis auf 0,1 g herabzudrücken, so daß die ganzen Untersuchungen an einem einzigen Blatt ausgeführt werden konnten.

Durch gleichzeitige umfangreiche Messungen der Chloroplastengröße und Bestimmung des Eiweißgehaltes konnte gezeigt werden, daß die bisher beobachtete, häufig parallel gehende Änderung des Eiweißbestandes der Zelle und der Chloroplastengröße keine notwendige und kausal miteinander verknüpfte Erscheinung ist. Mittels verschiedener experimenteller Eingriffe ließen sich die beiden Größen voneinander trennen, indem einerseits größere Umsetzungen im Eiweißgehalt der Zelle bei völliger Konstanz der Chloroplastengröße, andererseits ein weitgehender Abbau der Chlorophyllkörner bei Konstanz des Eiweißgehaltes beobachtet werden konnte. Nach diesen Feststellungen muß auch für das grüne Laubblatt dem Plasma der Zelle die beherrschende Rolle im Eiweißstoffwechsel zugeschrieben werden, in ähnlicher Weise wie das ja bei den ungefärbten pflanzlichen Zellen ohnedies der Fall ist.

4. Über das Welken der Blüten[1])

Von Walter Schumacher

Die Freude an schönen Blumen, die ja auch den Laien enger mit der Botanik verbindet, wird leider nur allzuoft beeinträchtigt durch die überaus kurze Lebensdauer dieser zarten Gebilde. Wer je eine Pflanze gepflegt und etwa auf das Aufblühen einer Kaktee manche Woche gewartet hat, weiß, wie kurz bemessen die Lebensspanne eines solchen Blütenwunders ist. Schon nach wenigen Tagen, ja, nach Stunden, beginnt die Blüte zu welken und unaufhaltsam zu verfallen. Es ist daher nicht zu verwundern, daß vor allem von seiten der Gärtner und der Schnittblumenindustrie immer wieder versucht wurde, die Blütendauer künstlich zu verlängern. Tatsächlich sind auch schon rein empirisch gewisse Wirkungen erzielt worden. Die wissenschaftliche Botanik stand aber bis jetzt diesem Welkprozeß der Blüten ziemlich ratlos gegenüber. Da für jeden Arzt die Erkenntnis der Krankheit aber das erste Erfordernis für ein rationelles Eingreifen ist, sollte versucht werden, in die Stoffwechselvorgänge, die hinter diesem Abwelken vermutet werden durften, etwas tiefer einzudringen, um auf diesem Wege vielleicht neue Erkenntnisse zu erlangen.

Tatsächlich glückte es, sehr merkwürdige Eiweißspaltprozesse in den Zellen der Blütenblätter aufzufinden, die nach ihrem ganzen Verlauf ursächlich mit dem Welken verknüpft sein mußten[2]). So setzt z. B. bei allen Kakteen schon beim Öffnen der Blüte ein geheimnisvoller ziemlich intensiver Eiweißzerfall ein, der, sobald eine bestimmte untere Grenze erreicht ist, zum Zusammenbruch der Zellen führt. Ganz besonders heftig, fast explosionsartig verläuft dieser Prozeß bei den sog. ephemeren Blüten, deren Lebensdauer nur wenige Stunden beträgt. Hier zerfällt oft schon im Laufe einer einzigen Stunde ein Drittel des gesamten Zelleiweißes. Bei den Orchideen aber, von

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Bonn.

[2]) Schumacher, W., Über Eiweißumsetzungen in Blütenblättern. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 75, 1932, S. 581.

denen schon lange bekannt war, daß das Abwelken ihrer Blüten im Zusammenhang mit der Bestäubung erfolgt, und zwar ausgehend von einem hormonartigen Körper, der den Pollenkörnern anhaftet, ließ sich zeigen, daß eben dieser Prozeß auch den Eiweißzerfall der Blüte in Gang bringt, der bis zur Bestäubung paralysiert war. Nur die Blüten, die ohne zu welken einfach ihre Blütenblätter abwerfen, ließen diese Eiweißzertrümmerung vermissen.

Sehr eigenartige Verhältnisse zeigten sich dann bei der weiteren Verfolgung der aus dem Eiweiß entstehenden stickstoffhaltigen Spaltprodukte. Die Pflanze geht ja im allgemeinen mit ihrem Stickstoffvorrat sehr haushälterisch um, und so wandern denn auch bei einer größeren Anzahl von Blütentypen die Eiweißspaltprodukte aus den welkenden Blütenblättern oft mit großer Schnelligkeit in die Pflanze zurück. Aber keineswegs bei allen Pflanzen! Es gibt eine ganze Reihe, zu denen z. B. unsere Rosen gehören, und wahrscheinlich alle Pflanzen mit frisch abfallenden Blütenblättern, die entsprechend der auch sonst in der Natur bei allen Sexualprozessen zu beobachtenden Verschwendung, den Stickstoffvorrat ihrer Blätter nicht mehr weiter verwenden und verloren geben. Solche Pflanzen müssen natürlich durch zu reichliches Blühen in ihrem Stickstoffbestand ganz erheblich geschädigt werden, und der Züchter muß hier ganz besonders durch Düngung für Ersatz sorgen.

Natürlich ist das Welken vor allem bei Schnittblumen nicht immer und ausschließlich auf diesen Eiweißzerfall in den Blütenblättern zurückzuführen. Es gibt hier auch ein Welken infolge von ungenügender Wasserversorgung, vor allem, wenn die Leitbahnen durch Bakterien oder Wundprodukte verstopft werden. Wahrscheinlich ist die Wirkung der meisten bis jetzt im Handel befindlichen und erprobten Mittel in dieser Richtung zu deuten. Das natürliche Welken ist aber zweifellos eine Folge der oben beschriebenen Vorgänge im Eiweißstoffwechsel, und es besteht die Hoffnung, daß diese Erkenntnis vielleicht nun ein sinnvolleres Eingreifen in die Lebensdauer unserer Blumen ermöglicht.

5. Untersuchungen über den Eiweiß-Stoffwechsel[1])

Von Kurt Mothes

Unsere Untersuchungen über Teilprobleme des pflanzlichen Eiweißstoffwechsels, über die schon 1929 in dieser Zeitschrift berichtet werden konnte, zwangen uns zu dem Versuch, die allgemeine Frage nach der natürlichen Regulation von Synthese und Abbau der Proteine einer Beantwortung zuzuführen. Dieses Problem erlangt eine besondere Bedeutung durch die Stellung der Eiweiße im Gesamtstoffwechsel der Pflanze. Zellteilung, Wachstum, Altern und Tod stehen zu dem Umsatz der Proteine unmittelbarer in Beziehung als zu dem der Kohlenhydrate. Während z. B. ein völliger Schwund der Stärke oder eine fast völlige Aufzehrung veratembarer Kohlenhydrate im grünen Blatt wohl zu einer Hemmung des Gesamtstoffwechsels führen können, wie sie sich in verringerter Atmung darstellt, aber doch nicht dauernde, irreversible, das Leben gefährdende Schädigungen hervorzurufen brauchen, bedeutet ein u. U. relativ geringer Eiweißschwund bereits die Herbeiführung des Zelltodes. Die Zellen bedürfen zur Aufrechterhaltung ihrer Lebenstätigkeit einer bestimmten Proteinmenge. Die äußeren Kennzeichen von an Eiweißmangel sterbenden Blättern sind Vergilbung, eine Folge der irreversiblen Zerstörung der Chloroplasten, und bei genügender Wassersättigung Infiltration der Interzellularen, ein Zeichen, daß die Semipermeabilität des Protoplasten aufgehoben ist. Beide Phänomene deuten im übrigen darauf hin, daß die Eiweiße an der Struktur der Protoplasten und der semipermeablen Plasmaschichten Anteil haben. Wir haben diese Vorgänge unter den verschiedensten Bedingungen studieren können, besonders eingehend bei älteren Blättern welkender Pflanzen.

Von den Faktoren, die das lebenswichtige Spiel zwischen Eiweißsynthese und Eiweißabbau beeinflussen, waren in unseren Untersuchungen vornehmlich zwei in Erscheinung getreten, wenn wir von der genügenden Stickstoffversorgung als notwendiger Voraussetzung einer Eiweißsynthese zunächst ganz absehen: Der Kohlenhydratvorrat und die Wassersättigung. Kohlenhydratmangel und un-

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Halle a. d. Saale.

genügende Wassersättigung förderten die Proteolyse und legten die Synthese von Eiweißen still. So wichtig der erste Faktor für die experimentelle Beeinflussung des Eiweißstoffwechsels ist, so unbedeutend erscheint er unter den natürlichen Bedingungen des pflanzlichen Lebens. Denn ein umfassendes Studium der in Betracht kommenden Erscheinungen lehrte uns, daß Eiweißabbau in höheren Pflanzen nur in den seltensten Fällen bei einem gleichzeitigen Mangel an Kohlenhydraten stattfindet. Die typischen Fälle liegen gerade umgekehrt: z. B. erfolgt der den Tod bewirkende starke Eiweißverlust in den untersten Blättern blühender Tabak- und Bohnenpflanzen auch dann, wenn viel Stärke vorhanden ist. Das gleiche gilt für die Proteolyse im herbstlich vergilbenden Blatt beim Flieder usw. Schließlich braucht nur auf den Eiweißabbau im keimenden Samen hingewiesen zu werden, der oft in Zellen erfolgt, die mit Kohlenhydraten geradezu vollgestopft sind.

Aber auch die Wassersättigung konnte als direkter Regulator des Eiweißumsatzes nicht in Frage kommen. Das zeigten uns zunächst reifende Samen des Stechapfels und der Kapuzinerkresse. In unreifem Zustande enthalten sie beträchtliche Mengen von Aminosäuren und Amiden. Läßt man die Samen in geeignetem nicht zu jungem Zustande losgelöst von der Mutterpflanze langsam trocknen, so findet Eiweißsynthese auf Kosten der löslichen N-Verbindungen statt. Läßt man die Samen aber in feuchter Kammer liegen, erfolgt Eiweißabbau. Diese Ergebnisse schienen den mit welkenden Blättern erhaltenen vollständig zu widersprechen. Es war aber nicht anzunehmen, daß im reifenden Samen ein proteolytisches System von grundsätzlich anderer Reaktionsweise als im Laubblatt wirksam war, vor allem da sich zeigte, daß die optimale Proteolyse im Blatt und im Samen etwa bei p_H 5 lag. Dies deutete darauf hin, daß die Gewebsprotease Papain vorliegt, deren Eigenschaften durch die Willstättersche Schule studiert worden sind. Hier und in den Arbeiten von Zalesky über Zwiebeln fanden wir den Ansatzpunkt zur Klärung der scheinbar sehr differenzierten Phänomene.

Zunächst versuchten wir einen Einblick in die Schwankungen der Fermentmenge im Laufe der Entwicklung bestimmter Organe zu erhalten. Da eine Reindarstellung des Papains noch nicht möglich ist, mußten wir aus der Wirkung des Fermentes im Autolysat usw. Rückschlüsse auf seine Konzentration ziehen. Jedoch wird das Papain in seiner Wirkung entscheidend durch Aktivatoren und Paralysatoren

bestimmt. Neben der Wasserstoffionenkonzentration mußten wir die Gegenwart von Blausäure und Sulfhydrilkörpern (Cystein, Glutathion) beachten. Durch optimale, künstliche Anreicherung der Aktivatoren erhielten wir einen Überblick über die maximale Leistung der in einem bestimmten Organ vorhandenen Fermentmenge, deren relative Größe somit bekannt wurde. Dabei zeigte sich die wichtige Tatsache, daß die Fermentmenge keinerlei regulatorische Bedeutung für den Eiweißumsatz hat. Im allgemeinen war die proteolytische Wirkung derjenigen Autolysate am größten, die Organen entstammten, in denen vital die stärkste Eiweißsynthese stattfand. Junge Blätter haben stärkere proteolytische Wirkung als alte; Embryonen übertreffen das Nährgewebe usw. Diese Tatsache deutet schon an, daß das Papain den allgemeinen Charakter eines Katalysators besitzt, Synthese und Abbau gleichermaßen zu beschleunigen vermag und auf die Richtung der Reaktion ohne Einfluß ist.

Eine andere Frage ist, ob auch die Aktivatoren des Papains (vor allem das Cystein) beim Abbau und bei der Synthese gleichermaßen wirken. Eine Antwort darauf konnte noch nicht gegeben werden, da wir in bezug auf den Mechanismus der Fermentaktivierung noch sehr im Dunklen tappen. Einige Bausteine zu einer künftigen Theorie der Aktivierung konnten beigetragen werden.

Es zeigte sich, daß für die Richtung des Eiweißumsatzes der Sauerstoff, genauer das Oxydationspotential, von entscheidender Bedeutung ist. Von verschiedenen Seiten stießen wir auf die gleiche Erkenntnis. Unser Mitarbeiter Tr. Schulze beschäftigte sich mit der Frage, warum in blühenden krautigen Pflanzen ein starker Eiweißabbau einsetzt. Es gelang ihm durch Extraktion der Laubblätter mit Hilfe von Azeton Stoffe von noch unbekannter chemischer Eigenschaft zu ermitteln, die eine eindeutig faßbare Wirkung auf die Proteolyse im Organ-Autolysat hatten. Extrakte vor der Blütezeit beeinflußten die Proteolyse kaum. Mit Beginn der Blüte nahmen die Extrakte die Eigenschaft eines starken Aktivators der Proteasen an. Das Auftreten der aktivierenden Wirkung konnte von den blütennahen, jungen bis zu den älteren Blättern schrittweise verfolgt werden. Nach der Blüte trat eine Umstimmung ein. Die Aktivierung der Azetonextrakte nahm ab und wandelte sich in eine schwach hemmende Wirkung um. Auch diese Umstimmung erfolgte von der Blütenregion her. Diese Veränderung der Eigenschaften des Azetonextraktes zeigte einen synchronen Ver-

lauf mit Veränderung der Proteolyse im Organautolysat ohne Azetonextraktzusatz und mit dem Eiweißumsatz in der intakten Pflanze. Zur Blütezeit wurden alle Organe von einem starken Impuls zum Eiweißabbau ergriffen, zur Fruchtzeit fand nicht allein in den Samen, sondern auch in den Blättern eine Eiweißsynthese statt. War aber während der Blüte der Eiweißgehalt unter das oben bezeichnete lebenbedingende Minimum gesunken, setzte sich die Umstimmung nicht mehr durch. Die Proteolyse dauerte an, die Eiweißspaltprodukte wanderten aus, und die betreffenden Blätter starben unter den oben geschilderten Anzeichen ab. Warum es im allgemeinen die unteren bzw. älteren Blätter sein müssen, die diesem Schicksal erliegen, geht aus dem Bericht von 1929 hervor. Die von der Blüte her erfolgende Regulation des Eiweißumsatzes steht im engen Zusammenhang mit den Vorgängen bei der Entwicklung der Samenanlage. Die Proteolyseförderung während der Anthese führt zur Mobilisation von u. U. außerordentlich großen Mengen von Eiweißen, die überwiegend in die Blütenregion transportiert werden und dort zur Ausbildung von Embryonen und Nährgeweben Verwendung finden. Diese Ergebnisse konnten zunächst am Tabak und an der Bohne ermittelt werden. Bei Sträuchern und Bäume treten gewisse Abweichungen von diesem Schema auf. Im Prinzip scheinen die hier beschriebenen Gesetzmäßigkeiten allgemeine Gültigkeit zu haben.

Es lag nahe, im Azetonextrakt einen Körper vom Charakter der Sulfhydrile oder Cyanide zu vermuten. Bisher haben sich diese Vermutungen aber nicht bestätigt. Es ergab sich aber die wichtige Tatsache, daß der Aktivator durch Oxydation zum Paralysator wird, daß andererseits der paralysierende Extrakt durch Einwirkung reduzierender Substanzen die Eigenschaften des Aktivators annimmt. Es handelt sich demnach wahrscheinlich um ein und denselben Regulator, der je nach seinem Oxydationszustand den proteolytischen Komplex in verschiedener Weise beeinflußt. In weiteren Arbeiten zeigte sich, daß der Körper auch wasserlöslich ist, nur wird er bei Wasserextraktionen leicht oxydiert. Azeton und saure Reaktion stabilisieren die reduzierte Substanz.

Die allgemeine Bedeutung dieser Regulation soll hier noch durch einige Beispiele angedeutet werden. Die Steigerung der proteolytischen Aktivität, die von der Blüte aus fortschreitet und allmählich die untersten Blätter ergreift, berührt auch die Vegetationspunkte. Das zeigt sich deutlich darin, daß die Tendenz zum Austreiben der Achsel-

knospen während der Blütezeit beim Tabak beträchtlich geringer ist als vorher und nachher. Zweifellos spielen dabei auch Veränderungen im Saftstrom eine Rolle. Doch dürften diese auch Folge und nicht Ursache des Spieles von Synthese und Abbau sein. Noch tiefer wirken diese Vorgänge im Lebensablauf hapaxanthischer Pflanzen, d. h. solcher Arten, die nur einmal blühen und Samen zur Reife bringen und dann absterben. Es gibt unter ihnen solche, die bei geeigneten Entwicklungsbedingungen ausdauern und mehrmals zur Blüte zu bringen sind, z. B. der Tabak, und solche, bei denen eine wesentliche Verlängerung des Lebens über das einmalige Fruchttragen hinaus nicht gelingt (z. B. Capsella). Solche Pflanzen sterben unter ausgesprochenen Hungererscheinungen ab. Die mikrochemische Untersuchung ergibt, daß Stärke oft in beträchtlichen Mengen vorhanden ist; an Kohlenhydratmangel gehen die Pflanzen also nicht zugrunde. Dagegen weisen die Blätter einen sehr geringen Eiweißgehalt auf. Während der proteolytischen Phase ist er offenbar dermaßen gesunken, daß das Leben begrenzende Minimum bereits unterschritten ist. Wie Versuche zeigten, nützt es in solchen Fällen nichts, wenn man die Fruchtstände entfernt. Der Eiweißabbau schreitet trotzdem fort. Es ist demnach nicht der durch Diffussionsgefälle unterhaltene Nährstoffstrom zu den Stätten starker Synthese (zu den Samen) allein, der den Eiweißabbau in den Blättern gefährlich vorwärts treibt, vielmehr wird dieser Eiweißabbau durch andere Ursachen ausgelöst. Gibt es also Pflanzen, die sich von dem starken Eiweißverlust in den vegetativen Organen überhaupt nicht mehr erholen, so gibt es auch Übergänge, wie z. B. Agave und Yucca. Das sind ausdauernde Pflanzen, aus deren grundständiger Rosette mehrjähriger Blätter erst u. U. nach vielen Jahren ein Blütenstand wächst, und zwar aus jeder Rosette nur einmal; denn sie stirbt nunmehr ab. Die Blätter werden ausgezehrt. verlieren ihre Turgeszenz, vertrocknen oder verfaulen. Die sekundären, unterirdischen Vegetationspunkte bleiben bemerkenswerterweise von dieser Auszehrung unberührt. Sie vermögen nach Absterben der vegetativen Teile des blühenden Sprosses auszutreiben. Es lag nahe, als Ursache der Auszehrung die Samenbildung mit ihrem gewaltigen Stoffverbrauch zu sehen. Das ist aber nicht der Fall! Findet z. B. bei Yucca die Befruchtung nicht statt oder entfernt man bei Agave den Blütenstand, so schreitet die Auszehrung der Blätter genau so voran, als wenn Samenbildung erfolgt. Nur strömen jetzt die aus den Blättern stammenden Substanzen

nicht in die Samenanlagen sondern in die vegetativen Knospen, die nunmehr als Attraktionszentren wirken und in besonders großer Zahl und Kräftigkeit zu treiben beginnen. Das Austreiben dieser Knospen an fruchtenden Pflanzen ist so zu verstehen, daß ein Teil der mobilisierten Nährstoffe nicht von den Samen verbraucht wird, sondern in die Knospen abströmt. Jedenfalls ist deutlich, daß die Ursache des Absterbens der Blätter, der Entwicklung des Samen, des Austreibens der vegetativen Knospen primär in der Mobilisation von Nährstoffen in den Blättern zu sehen ist, und diese wird von der Blüte her reguliert! Der Mechanismus ist eindrucksvoller, aber im Prinzip dem oben bei Nicotiana und Phaseolus geschilderten gleich. Es gibt sogar Pflanzen (z. B. Fritillaria), bei denen der Fruchtansatz das Leben der vegetativen Teile verlängert, offenbar weil die oben erwähnte von der Frucht her erfolgende Umstimmung des Stoffwechsels in der Richtung der Synthese die Blätter rechtzeitig erfaßt, was bei Yucca offenbar niemals der Fall ist. Hier setzen unsere weiteren Untersuchungen über den Lebensablauf hagaxanthischer und ausdauernder Pflanzen ein.

War durch die Untersuchungen über den Regulator blühender Pflanzen bereits ein Hinweis gegeben, daß Sauerstoff einen entscheidenden Einfluß auf den Eiweißumsatz hat, so ergaben sich (z. T. aus den Arbeiten Zaleskys) bald neue für solche Zusammenhänge sprechende Tatsachen. Zunächst studierten wir das Spiel von Eiweißsynthese und Abbau im kohlenhydratreichen Blatt.

Durch Ausbau der Vakuuminfiltrationsmethode gelang es uns, Blätter zu schneller Eiweißsynthese zu zwingen. Zunächst zeigte sich, daß Gemische von Aminosäuren, wie sie in Eiweißhydrolysaten vorliegen, für die Synthese der Eiweiße wesentlich geeigneter sind als Ammoniak, und daß dieses wiederum einzeln gebotene Aminosäuren, z. B. Asparagin oder Serin, an Wirkung beträchtlich übertrifft. Das deutet darauf hin, daß die alte Fischersche Theorie auch für den natürlichen Aufbau der Proteine im Blatt ihre Gültigkeit hat. Für unsere Betrachtung wichtiger ist, daß diese Eiweißsynthese aus dem Hydrolysat nur bei hoher Sauerstoffspannung vor sich geht.

Auf diesem Wege konnte auch ein Beitrag zur Erhellung eines alten Problems geliefert werden. Er betrifft den Einfluß des Lichtes auf die Eiweißsynthese aus Aminosäuren. Schon früher hatte ich gefunden, daß in isolierten Blättern nachts oft ein deutlicher Ei-

weißabbau, tags erneute Synthese aus den Spaltprodukten stattfand. Dem Ausmaß nach sind diese Vorgänge gering, können aber regelmäßig bei nicht zu jungen Blättern geeigneter Pflanzen gefaßt werden, wenn man nur die bei Beleuchtung leicht eintretenden Sättigungsdefizite vermeidet. Auch diese nächtliche Proteolyse findet in Gegenwart erheblicher Kohlenhydratmengen statt. Es zeigte sich nun, daß sie auch dann eintritt, wenn die Blätter beleuchtet, aber in sauerstoffreier Stickstoffatmosphäre über Pyrogallol-Kalilauge gehalten werden. Umgekehrt unterblieb die nächtliche Proteolyse immer dann, wenn man die Blätter in 100% Sauerstoff brachte oder durch erzwungenes Offenhalten der Spaltöffnungen (Schock durch plötzliches Anwelken) eine Diffusion des Sauerstoffs ermöglichte. Ganz dieselben Verhältnisse erhielten wir auch bei welkenden Pflanzen. Nicht der Wasserentzug löst die Proteolyse aus, sondern der Schluß der Spaltöffnungen, die mangelnde Durchlüftung. Die ungenügende Sauerstoffversorgung wird durch die Sistierung der *Photosynthese* gesteigert. *Diese wirkt offenbar weniger durch die Lieferung von Assimilaten, sondern indirekt durch Erhöhung der Sauerstoffspannung.*

Hieraus ergibt sich ein Hinweis, wie die oft beobachtete Tatsache eines *Parallelgehens von hoher Atmung und intensiver Eiweißsynthese* zu erklären ist. Die Wirkung des Sauerstoffs ist eine doppelte. Er fördert solche Prozesse, die die Energie für die Eiweißsynthese herbeischaffen. Diese Funktion erscheint mir deshalb unerheblich, weil die negative Wärmetönung der Eiweißsynthese aus Aminosäuren im Verhältnis zum Gesamtenergiewechsel des Blattes sehr gering ist. Der Sauerstoff hemmt aber gleichzeitig die Proteolyse. Dies kann in zweifacher Weise geschehen: Er kann die natürlichen Aktivatoren der Proteolyse oxydieren und außer Wirkung setzen. So treffen wir die Sulfhydrilreaktion nur in solchen Geweben, die unter Sauerstoffmangel leiden (z. B. ruhende Zwiebel, keimende in Wasser liegende Samen). Solche Aktivatoren müssen wir aber in den Eiweißen selbst sehen, die reduziert freie Sulfhydrilgruppen haben. Werden die Eiweiße oxydiert, aktivieren sie das Enzym nicht mehr.

Jedenfalls ist das Spiel zwischen Synthese und Abbau unter dem Einfluß veränderter Sauerstoffspannung im Leben der Pflanze bei den verschiedensten Entwicklungsstadien beobachtbar und eine Parallele zum Kohlenhydratstoffwechsel. Wir haben vornehmlich die Um-

setzungen in unterirdischen Reservestoffbehältern und in keimenden und reifenden Samen studiert. Darauf kann hier nur in Kürze eingegangen werden. Das Treiben der Zwiebel ist eng mit einer intensiven Synthese von Eiweißen verbunden. Primäre Ursache ist auch hier der Zutritt von Sauerstoff (Zalesky). Ruhende Zwiebeln enthalten einen Aktivator der Proteolyse in großer Menge. Keimende oder zerschnittene Zwiebeln zeigen die aktivierende Wirkung auf Papain nicht. Hier sind die Aktivatoren im allgemeinen lösliche Sulfhydrilkörper. Bei guter Durchlüftung verschwindet die Sulfhydrilreaktion, und es tritt starker Lauchölgeruch auf. Vielleicht stehen die Aktivatoren chemisch in enger Beziehung zu diesen S-haltigen Ölen. Es gibt Zwiebeln, die arm an Lauchölen und arm an löslichen Sulfhydrilkörpern sind. Solche Zwiebeln geben trotzdem in ruhendem Zustand oder in Anoxybiose auf frischer Schnittfläche die Sulfhydrilreaktion. Offenbar sind es die Eiweiße selbst, die reduziert sind. Wichtig erscheint auch, daß beim Treiben der Zwiebeln die Sulfhydrilreaktion am spätesten aus den Siebröhren und aus dem Siebparenchym verschwindet. Es ist bekannt, daß in diesen Geweben große Mengen von Eiweißabbauprodukten lagern. Offenbar ist die Aufrechterhaltung eines niederen Oxydationspotentiales geradezu eine Voraussetzung für die Erfüllung der Siebröhrenfunktion, den Translokationsstrom löslicher Verbindungen zu leiten und zu erhalten.

Im Prinzip liegen die Verhältnisse im keimenden Samen ganz wie bei Zwiebeln. Wir arbeiteten vornehmlich mit Leguminosen. Im Laufe der Quellung und der beginnenden Keimung wird die Proteolyse gewaltig gesteigert. Das läßt sich leicht im Autolysat feststellen. Diese Steigerung beruht aber weniger auf einer Erhöhung der Enzymkonzentration durch Neubildung von Ferment, als auf dessen Freilegung und Aktivierung. Gekeimte Samen sind außerordentlich empfindlich gegenüber Sauerstoffmangel. Die proteolytische Kraft steigt dabei sehr schnell an. Auch hier spielen lösliche Regulatoren eine entscheidende Rolle. Sie haben mindestens z. T. Sulfhydrilcharakter. Sie kommen im Keimling in erheblich größerer Konzentration vor als im Endosperm (bzw. in den Cotyledonen). Jedoch liegen sie hier im reduzierten, dort im allgemeinen im oxydierten Zustand. Umgekehrt liegen die Verhältnisse im reifenden Samen. Für die Reife ist Sauerstoffzutritt notwendig. Entquellung bedeutet offenbar Erleichterung des Sauerstoffzutritts

und Erhöhung der Sauerstoffspannung im Gewebe. Bringt man milchreife Daturasamen in verschiedene Sauerstoff-Stickstoffgemische, so zeigen bei gleichem Quellungszustand diejenigen Samen schnellste Eiweißsynthese, die in 100%igem Sauerstoff liegen. Quellung hindert die Sauerstoffdiffusion und erniedrigt die Sauerstoffspannung im Gewebe. Die Synthese wird gehemmt. Der Quellungszustand beeinflußt also nicht allein das chemische Gleichgewicht zwischen Eiweiß und Aminosäuren. Das geht auch daraus hervor, daß bei vermindertem Sauerstoffdruck auch bei Entquellung die Synthese ausbleibt.

Wir hoffen, durch diese Untersuchungen einige neue Gesichtspunkte für die Physiologie der Samenreife, der Samenkeimung und des Treibens von Knollen und Zwiebeln aufgestellt zu haben, woraus sich auch nicht unwichtige Folgerungen für Landwirtschaft und Gartenbau ergeben. Jedoch ist das Problem noch keineswegs erschöpft und bedarf für die theoretische Klärung noch intensivster Weiterarbeit. Vor allem lenken diese Untersuchungen unser Augenmerk auf die allgemeine Bedeutung des Oxydationspotentials für synthetische und hydrolytische Prozesse. Wenn wir auch im Versuch aus praktischen Gründen mit einer Veränderung der Sauerstoffspannung arbeiteten, kommt es offenbar allein auf das Oxydationspotential an. Dieses wird nicht nur von der effektiven Sauerstoffkonzentration, sondern auch von der Wasserstoffionenkonzentration und von der Gegenwart solcher Substanzen beeinflußt, die ein eigenes Oxydationspotential entwickeln können (Redoxkörper). Hier gehen wir noch völlig im Dunkeln. Man könnte zwar vermuten, daß z. B. die vorwiegend neutrale oder schwach alkalische Reaktion junger Gewebe für ein hohes Oxydationspotential entscheidend sei und damit schon auf die vorherrschend synthetischen Tendenzen hinweise. Doch sind zwischen Plasma und Zellsaft bereits solche Differenzen im p_H gegeben, daß erst ein tieferer Einblick in die Lokalisation der hier behandelten Prozesse uns Aufklärung vermitteln und Schlüsse erlauben kann. Andererseits sind wir geneigt anzunehmen, daß diese Regulatoren, von denen wir oben im Zusammenhang mit dem Stoffwechsel blühender Pflanzen sprachen, gar nicht in direkter Weise zu wirken brauchen, sondern daß ihre Funktion in einer für die Proteolyse entscheidenden Veränderung des Oxydationspotentials besteht. Daraus würde sich aber ergeben, daß diese Regulatoren nicht spezifischen Charakter zu tragen brauchen.

Diese Arbeiten haben uns zur Beschäftigung mit zwei anderen Problemen des Eiweißstoffwechsels veranlaßt. Tr. Schulze untersuchte die Frage des Eiweißumsatzes im abgeschnittenen Blatt, das also den regulatorischen Einflüssen, die in der intakten Pflanze sich bemerkbar machen, entzogen ist. Er fand, daß der Stoffwechsel der Blätter einen stabilen Eiweißwert erreicht, der bei alten Blättern niedriger ist als bei jungen. Blätter, deren Eiweißgehalt höher liegt, haben die Tendenz, Eiweiß zu mobilisieren; umgekehrt synthetisieren Blätter mit niedrigem Gehalt Eiweiße leicht, bis sie den ihnen zukommenden Stabilitätswert erreicht haben. Blätter, deren Eiweißgehalt das mehrfach erwähnte, Leben gefährdende Minimum unterschritten haben, sind zur erneuten Synthese unfähig. Theoretisch bleibt hier noch mancherlei zu klären.

Ein anderes Problem wurde durch die Untersuchungen an welkenden Pflanzen angeschnitten. Wir fanden, daß eine beträchtliche Erhöhung der CO_2-Ausscheidung in solchen Organen erfolgt, in denen Aminosäuren sich anreichern. G. Schwabe prüfte daraufhin den Einfluß von α-Aminosäuren auf den Sauerstoffverbrauch submerser Gewächse (Elodea, Potamogeton, Fontinalis). Es zeigte sich, daß alle geprüften biogenen Aminosäuren (die in ihren natürlichen optischen Isomeren zur Verwendung gelangten) den Sauerstoffverbrauch (und auch die CO_2-Produktion) erhöhen. (Vgl. dazu S. 24.) Der Effekt ist z. T. außerordentlich. So können 0,003 mol Glutaminsäure- oder Alaninlösungen eine Atmungssteigerung auf das Fünffache des normalen Wertes hervorrufen. 0,003 mol Aminosäurelösungen werden aber im Organismus bei geförderter Proteolyse leicht erreicht. Die theoretische Klärung dieser Befunde stieß insofern auf Schwierigkeiten, als die direkte Verfolgung des Schicksals der eingedrungenen Aminosäuren infolge zu geringer Mengen nicht gelang. Die naheliegende Auffassung, daß eine Verbrennung der Aminosäuren den Mehrverbrauch an Sauerstoff bewirke, befriedigt aus folgenden Gründen nicht: Der Atmungsquotient bleibt der gleiche. Das deutet darauf hin, daß der normale Atmungsprozeß lediglich gefördert ist und keine wesentlichen, prinzipiell andersartigen Oxydationsprozesse ablaufen. Auch zeigte sich, daß die steigernde Wirkung der Aminosäuren auf den Sauerstoffverbrauch nicht der Konzentration proportional war. Vielmehr ergaben sich auffällige Kurven: Bei noch sehr geringer Konzentration erreichte die Aminosäurenwirkung ein Maximum, klang dann ab und stieg bei weiterer Erhöhung erneut an.

Auch war der Aminosäureneffekt um so größer, je höher die Normalatmung war, d. h. je besser die Pflanzen ernährt waren. Dies zwang zur Annahme einer Aktivierung des Atmungsprozesses durch Aminosäuren. Zunächst wurde daran gedacht, daß die Aminosäuren im Sinne von Knoop als Redoxkörper funktionieren, zu einem labilen Oxydationsprodukt (Imino- oder Oxyaminosäure) dehydriert werden und in dieser Form leicht als Wasserstoffakzeptor auftreten und dadurch den normalen Kohlehydratabbau beschleunigen. Vor allem deuteten einige Modellversuche in dieser Richtung. Es kommen aber auch andere Erklärungsmöglichkeiten in Frage, die hier zu diskutieren zu weit führen würde. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß Aminosäuren nicht allein als Eiweißbausteine eine Rolle spielen, sondern daß sie noch andere Funktionen im Stoffwechsel der Pflanzen haben.

Literatur

Mothes, K.: Das Nikotin im Stoffwechsel der Tabakpflanze. Apoth. Ztg. 1930, Nr. 13.

Schmalfuß, K. und Mothes, K.: Über die fermentative Desamidierung durch Aspergillus niger. Biochem. Z. 1930, Bd. 221, S. 134.

Mothes, K.: Neuere Untersuchungen über den Eiweißumsatz in höheren Pflanzen. Ber. D. bot. Ges. 1930, Bd. 48, S. (23).

Mothes, K.: Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. 3. Beitrag. (Unter besonderer Berücksichtigung des Blattalters und des Wasserhaushaltes.) Planta, 1931, Bd. 12, S. 685.

Mothes, K.: Ernährung, Struktur und Transpiration. Biolog. Zentralbl. 1932, Bd. 52, S. 193.

Schulze, T.: Untersuchungen über die Bedeutung von Aktivatoren und Paralysatoren für den pflanzlichen Eiweißstoffwechsel. Planta, 1932, Bd. 16, S. 116.

Mothes, K.: Die natürliche Regulation des pflanzlichen Eiweißumsatzes. Naturw. 1932, Bd. 20, S. 102.

Schwabe, G.: Über die Wirkung der Aminosäuren auf den Sauerstoffverbrauch submerser Gewächse. Protoplasma 1932, Bd. 16, S. 397.

Mothes, K.: Stoffwechsel, I. in Fortschritte der Botanik 1932, Bd. 1, S. 155.

Mothes, K.: Die natürliche Regulation des pflanzlichen Eiweißstoffwechsels. Ber. D. bot. Ges. 1933. Bd. 51, S. 31.

Mothes, K.: Sauerstoffpotential und Eiweißumsatz im Laubblatt. Flora 1933, Bd. 128, S. 58.

Mothes, K.: Über die natürliche Aktivierung der pflanzlichen Gewebeproteinase. Naturw. 1933.

V

Säure – Stoffwechsel

1. Zur Frage der Entstehung organischer Säuren in grünen Pflanzen[1])

Von Karl Wetzel

Die bereits in Heft 8 dieser Mitteilungen dargelegten Untersuchungen über den Säurestoffwechsel grüner Pflanzen sind inzwischen fortgesetzt worden. Über die Ergebnisse dieser Arbeiten soll hier kurz weiter berichtet werden[2]). Es konnte bereits in der erwähnten früheren Mitteilung über enge Beziehungen zwischen Desaminierungsprozessen und Säurebildung im Rhabarber berichtet werden. Dagegen war es damals noch nicht gelungen, das Desaminierungsprodukt, den NH_3 und die neu entstandene Säure in bilanzmäßige Übereinstimmung zu bringen. Die Rhabarberstiele, die sonst infolge ihres außerordentlich lebhaften N-Stoffwechsels zum Studium dieser Vorgänge sich als besonders geeignet erwiesen, versagten beim Versuch einer Bilanzaufstellung zwischen N- und Säurestoffwechsel, da offensichtlich die in den Stielen gefundene Säure nicht einheitlichen Ursprungs war, vielmehr nur z. T. im Stiel neu entstanden, zum andern Teil dagegen vom Rhizom aus zugeleitet worden war. Dieser letztere Anteil stand natürlich in keinerlei Beziehungen zum N-Stoffwechsel und mußte die wahren Zusammenhänge verschleiern. Eine Elimination dieser für die Aufstellung einer Bilanz störenden Fehlerquelle gelang zunächst im abgeschnittenen Blatt. Die Blattfläche ist im normalen Ernährungszustand relativ arm an praeformiertem Ammoniak, dagegen sehr eiweißreich. Bei länger andauernder Verdunkelung wird nach Verbrauch der Kohlehydratvorräte dieses Eiweiß nicht nur hydrolysiert, sondern zur Bestreitung des Energiehaushaltes werden die entstandenen Aminosäuren weitgehend desaminiert. Da eine Stoffbewegung von der Blattlamina nach dem Blattstiel am abgeschnittenen Blatt nur in sehr geringem Ausmaße erfolgt, gibt der in der Blattlamina gefundene Ammoniakgehalt ein treues Abbild von den während der Verdunkelung abgelaufenen Desaminierungs-

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Leipzig.

[2]) W. Ruhland und K. Wetzel: „Zur Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen". V. Weitere Untersuchungen an **Rheum hybridum hort.** Planta VII, 1929, S. 503—507.

prozessen. Die Säure bleibt freilich nicht ganz unberührt von den durch die anhaltende Verdunkelung erzwungenen Abbauvorgängen, sie wird vielmehr selbst z. T. mit in den Abbau hineingerissen. In den ersten beiden Tagen der Verdunkelung nimmt daher die Säure konform mit den veratmeten Kohlehydratreserven ab; aber schon am dritten Verdunkelungstage (T = 30°) wurde die Säureabnahme abgestoppt, was indes nicht auf eine Sistierung der Säureabbauprozesse, sondern auf eine ihr entgegenlaufende Säurebildung zurückzuführen war. Tatsächlich stieg auch in den folgenden Tagen die Säure weiter an. Bemerkenswert ist nun die Tatsache, daß synchron mit der Säureproduktion eine rasch an Intensität zunehmende Desaminierung eingesetzt hatte, wobei sich unter Berücksichtigung des Säureabbaues schon eine leidlich bilanzmäßige Übereinstimmung von neugebildetem Ammoniak und Säurezunahme errechnen ließ.

Mit einem störenden Säureabbau hätte man im Stiele weniger zu rechnen gehabt, da dort erfahrungsgemäß auch bei Verdunkelung nur geringe Säureschwankungen auftreten. Die NH_3-Säurebilanz mußte dort auch viel reiner in Erscheinung treten, wenn es gelang, neugebildete und zugeleitete Säure zu trennen. Der Weg zu einer solchen Trennung wurde uns durch die Untersuchung der optischen Eigenschaften der in den verschiedenen Pflanzenorganen auftretenden Apfelsäure gewiesen. Es ergab sich aus diesen optischen Untersuchungen die auffallende Tatsache, daß im Rhizom wie in allen wenig sauren Teilen des Rhabarbers die Äpfelsäure in optisch inaktiver Form vorliegt, während in stark sauren Organen wie in den Blattstielen ein vom Entwicklungsalter des Organs abhängiger Anteil der gefundenen Säure optisch aktiv und zwar linksdrehend gefunden wurde. Mittels einer auf die Waldensche Entdeckung der enormen Drehungssteigerung der optisch aktiven Äpfelsäure durch Uranylsalzzusatz gegründeten analytischen Bestimmungsmethode ließ sich der optisch aktive Anteil der Äpfelsäure sehr genau und zuverlässig bestimmen. Eine entsprechende über den ganzen Entwicklungszyklus eines Blattes von der Knospe bis zum herbstlichen Absterben sich erstreckende Untersuchung ergab zunächst die richtungweisende Tatsache, daß mit fortschreitender Entwicklung der relative Anteil der optisch aktiven Säurekomponente stetig anstieg. Während im ganz jungen Blattstiel nur Spuren von l' Äpfelsäure gefunden wurden, machte diese im älteren ausgewachsenen Blatt bis zu $^2/_3$ der Gesamtsäure aus. In dunkelgezogenen Kulturen, in denen die weitere Ver-

arbeitung des aus Desaminierungsprozessen hervorgegangenen Ammoniaks nur eine relativ geringfügige ist, ließ sich eine weitgehende Übereinstimmung zwischen Ammoniak und 1′ Apfelsäureanhäufung konstatieren. Das molekulare Verhältnis vom Ammoniak und 1′ Apfelsäure näherte sich nach anfänglicher Unterbilanz der aktiven Säure (wahrscheinlich infolge von Inaktivierung derselben in dem wenig sauren Gewebe der jungen Blattstiele) rasch den aus der Annahme eines stofflichen Zusammenhanges zwischen Desaminierung und Säurebildung theoretisch zu fordernden Wert 1, der sich konstant hielt, bis eine zunehmende Weiterverarbeitung von Ammoniak ihn etwas herabdrückte. Offensichtlich war also die aktive Säure der direkt aus der Desaminierung hervorgehende Säureanteil, was mit der optischen Aktivität der biologischen Aminosäuren wohl übereinstimmt. Diese letztere bleibt bei der Desaminierung also offensichtlich erhalten, was für die Aufdeckung des Chemismus der biologischen Desaminierung nicht ohne theoretisches Interesse ist. Die gute Übereinstimmung von Ammoniak und optisch aktiver Säure beweist weiterhin, daß an dieser Desaminierung entgegen einer Meinung Kostytschews Amide in merklicher Weise nicht beteiligt sind, was übrigens durchaus mit Untersuchungen über die Zusammensetzung der Rhabarbereiweiße übereinstimmt, über die an anderer Stelle berichtet werden soll.

Auch die Lokalisation von Säure und Ammoniak zeigt deutlich die Verkettung ihrer beiderseitigen Entstehungsprozesse. Der Gehalt an beiden Stoffen nimmt im Blattstiel von der Basis nach der Blattlamina zu und fällt in den Rippen nach dem grünen Blattgewebe hin wieder stark ab. Auffallend ist dabei, daß die sauersten Pflanzenteile nicht nur absolut sondern auch relativ (bezogen auf die vorhandene Gesamtsäure) am reichsten an optisch aktiver Säure sind, während Orte geringerer aktueller Azidität wie das Spreitenparenchym, die Rippenendigungen und das Rhizom trotz ihres hohen Gehaltes an inaktiver gebundener Säure fast oder völlig frei von optisch aktiver Säure sind. Beim Rhizom ist das um so bemerkenswerter, als doch im Herbst beim Vergilben der Blätter nicht unerhebliche Mengen optisch aktiver Säure ins Rhizom zurückwandern. Offenbar wird dort die 1′ Apfelsäure sofort inaktiviert, denn auch kurz nach der Säurerückwanderung wurde das Rhizom frei von optisch aktiver Säure gefunden. Allerdings ist die Abwanderung der Apfelsäure aus den oberirdischen Organen vor Beginn der Winterruhe nur eine sehr unvollkommene, wobei die Pflanze selbst offensichtlich weniger

Wert auf das Säureanion als auf das hieran gebundene Basenkation legt, denn nur der an Ammoniak gebundene Säureanteil, also die praeformierten Ammonsalze, wandern in höherem Ausmaß ins Rhizom zurück. Aus der unter natürlichen Bedingungen ammoniakarmen Blattspreite wandert daher im Herbst auch keine nennenswerte Menge Säure ab, der wertvolle N wird offenbar in Form von Aminosäuren abgeleitet. Ein Maiblatt besitzt daher keinen größeren Säuregehalt als ein vergilbtes Blatt Ende Oktober. Anders liegen die Verhältnisse in den Blattstielen, die bis in den Herbst hinein über sehr erhebliche Mengen von organischen Ammonsalzen verfügen. Diese werden vor dem Einziehen der Blätter ins Rhizom zurückgeleitet, weshalb in den Stielen kurz vor dem Absterben der Säuregehalt scharf zurückgeht. Aber diese Rückwanderung der Säuren aus den Stielen ins Rhizom ist kein kontinuierlich über die gesamte Vegetationsperiode sich hinziehender Vorgang wie z. B. Steinmann annimmt (1917), sondern sie setzt vielmehr erst schlagartig mit der Vergilbung der Blätter ein.

Für einen Einblick in den Abbauchemismus der Apfelsäure, der im Rhabarber ein zweifellos anderer als bei sukkulenten Crassulazeen ist, wie schon aus dem Fehlen tagesperiodischer Säureschwankungen hervorgeht, ist die durch die besondere Versuchsanstellung bzw. im Vegetationsverlauf spontan vor sich gehende Verschiebung im Verhältnis der einzelnen Säuren zueinander von Belang. In beiden Fällen tritt klar in Erscheinung, daß vor allem der l'Apfelsäuregehalt sich zugunsten der inaktiven Apfelsäure vermindert. So fällt der Gehalt an optisch aktiver Säure im Stiel, wo er im Juli mit etwa 60% der Gesamtsäure ein Maximum erreicht, bis auf etwa 16% im Oktober ab. Aber auch die inaktive Apfelsäure tritt im Verlauf der Vegetation immer mehr zugunsten der Oxalsäure zurück. Diese selbst bleibt von der herbstlichen Stoffwanderung fast völlig unberührt, was mit ihrer weitgehenden Bindung an das für die Pflanze weniger wertvolle Ca zusammenhängen dürfte. Unter besonders ungünstigen Versuchsbedingungen, die einen scharfen Hungerzustand in der Pflanze induzieren, kann die Oxalsäure zwar noch weiter abgebaut werden, aber unter natürlichen Bedingungen verhält sie sich in Blatt und Stiel wie ein Stoffwechselendprodukt bzw. ein Exkret. Die Frage der tagesperiodischen Säureschwankungen im Rhabarberblatt und Stiel sowie neue Einblicke in die Zusammensetzung des Rhabarbereiweißes sollen an anderer Stelle publiziert werden.

2. Der Säurestoffwechsel sukkulenter Pflanzen[1])

Von Wilhelm Ruhland

Als erstes wichtiges Ergebnis der im Leipziger Botanischen Institut vor einigen Jahren in Angriff genommenen Untersuchungen zur Klärung der noch unbekannten Physiologie der in Pflanzen so weit verbreiteten organischen Säuren hatte sich ergeben, daß in „Säurepflanzen", wie es die Begonien und der Rhabarber sind, die Apfelsäure als Oxydationsprodukt des C-Skelettes bei der Desaminierung von Aminosäuren mit NH_3 zusammen entsteht. Die Apfelsäure wird dann zum großen Teil langsam zu Oxalsäure weiter abgebaut. Tagesperiodische Säureschwankungen fehlen in diesen Pflanzen, die Säurebildung erfolgt vielmehr als Kennzeichen eines gewissen Entwicklungszustandes, der durch lebhafte Desaminierungsprozesse gekennzeichnet ist.

Dieses Ergebnis war neu und unerwartet. Von den Crassulaceen dagegen ist seit längerer Zeit ein ganz andersartiger, und zwar tagesperiodischer Säurestoffwechsel bekannt, der mit modernen Methoden nachgeprüft und auf seine Verbreitung bei anderen Sukkulenten untersucht werden sollte. Diese von M. Bendrat[2]) unternommene Aufgabe war zunächst als ein Vorfühlen auf ein recht unbefriedgend erforschtes, fast noch unbekanntes großes Stoffwechselgebiet gedacht. Es galt, zunächst einmal exakt die chemische Natur der Säuren festzustellen und ihr Auftreten und Verschwinden auf tages-, jahres- oder entwicklungszeitliche Gebundenheit zu prüfen, kurz einen einwandfrei begründeten Einblick in das gröbere physiologische Verhalten der Säuren in der Pflanze zu gewinnen, um auf dieser Grundlage dann später womöglich einmal die Zusammenhänge mit bestimmten anderen stoffwechselphysiologischen Vorgängen, insbesondere auch den Chemismus des Entstehens und Verschwindens der Säuren enträtseln zu können.

---

1) Aus dem Botanischen Institute zu Leipzig.

2) „Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen". VI. M. Bendrat: „Ein Beitrag zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Pflanzen". Planta VII, 1929, S. 508—584.

Die Nachprüfung des oben erwähnten Crassulazeentypus begann mit einer Kritik der bisherigen Arbeitsmethoden, die heute alle als gänzlich ungenügend erscheinen müssen. Die in der ersten Zeit fast allein verwendete Titration erfaßt natürlich nur freie Säure bzw. saure Salze, läßt dagegen die Neutralsalze der organischen Säuren ganz unberücksichtigt. Soweit die Apfelsäure analytisch durch Fällungen bestimmt wurde, waren diese nicht quantitativ und spezifisch (vgl. z. B. Bernsteinsäure) usw.

Später zog man die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration zur Untersuchung des Säurestoffwechsels mit heran, wobei aber natürlich nur das H·-Jon, nicht das Säuremolekül erfaßt wird. Man verglich dann (Hempel, Gustavson) aktuelle und titrimetrische Azidität miteinander, wobei Unterschiede im Ausmaß und sogar in der Richtung beider gefunden wurden. Die Ursache soll im verschiedenen Mengenverhältnis saures Salz: Neutralsalz, d. h. Übergang derselben Säure von einer in eine andere Dissoziationsstufe liegen (Hempel) oder darin, daß (bei starker Lichtintensität) eine andere Säure mit anderer Dissoziationskonstante gebildet werde (Gustavson). Leuthardt maß die Pufferkapazität elektrometrisch und schloß aus dem gewonnenen Titrationskurven auf die absolute Azidität. Er zeigte, daß die H·-Jonenkonzentration als Ausdruck der Pufferungskapazität durch Nichtelektrolyte (Zucker usw.) beeinflußt wird. Die Abweichungen zwischen theoretisch berechneter und gemessener H·-Konzentration werden durch „negative Pufferung" der Nichtelektrolyte erklärt. Die Pufferung ist aber bei verschiedenen Arten verschieden groß und schwankt auch bei derselben Art. Bei Veränderungen der H·-Konzentration sind mindestens 4 Faktoren, Neutralsalz, entstehende freie Säure, anwesende Nichtelektrolyte und zugeleitete Basen beteiligt, ferner evtl. auch Umwandlung von Säuren in solche mit anderer Dissoziationskonstante usw.

So kann denn wie Bendrat an tatsächlich gefundenen Beispielen aus ihren Pflanzenuntersuchungen zeigt, das Zusammenwirken aller dieser Faktoren bewirken, daß die titrimetrische, elektrometrische und analytische Bestimmung die „Säure"-Schwankungen in ganz verschiedener Stärke und sogar in verschiedener Richtung anzeigen.

Deshalb kann nur eine quantitative analytische Bestimmung die im Säurestoffwechsel jeweils vorhandenen Säuremengen aufdecken. Bestimmt wurden freie und gebundene Säuren getrennt. Die Per-

manganatmethode zur Trennung von Bernstein- und Apfelsäure wurde so verbessert, daß beide Säuren befriedigend nebeneinander erfaßt werden konnten. Da jedoch erstere meist nur überaus spärlich vertreten war, wurde die besonders zeitraubende Bestimmung derselben vielfach unterlassen.

Es ist ein merkwürdiger Zufall, daß bei Sempervivum glaucum, dem Hauptobjekt Bendrats, durch obige quantitative Analyse gezeigt werden konnte, daß die bisherigen, ganz unbewiesenen Behauptungen vom täglichen Säurewechsel sich z. T. als richtig erwiesen haben. Wenigstens gilt dies für die alten und mittelalten Blätter, die in der Tat nachts ansäuern, während die jungen unter gleichen Bedingungen u. U. dann auch absäuern. Während des Tages ist in den ersten Stunden die Absäuerung schwach, und setzt dann in den einzelnen Organen mit verschiedener Stärke ein. In den frühen Nachmittagsstunden, also bei guter Beleuchtung, kann bereits wieder angesäuert werden. Die Hauptabsäuerung beschränkt sich also auf wenige Stunden um Mittag. Die Säureschwankungen sind nicht nur und auch nicht in der Hauptsache, wie bisher angenommen, von Außenfaktoren, sondern ebenso stark von inneren Bedingungen der Organe abhängig, so daß bei gleichen Außenfaktoren quantitative und qualitative Unterschiede in der Schwankung beobachtet wurden. Unter den inneren Bedingungen steht das Alter, also der Entwicklungszustand des Blattes an erster Stelle, aber auch Leitungsvorgänge spielen eine wichtige Rolle. Wie diese verschiedenerlei äußeren und inneren Bedingungen die Schwankungen des täglichen Säurestoffwechsels beeinflussen, müssen spätere Bilanzversuche lehren. Einheitlicher dagegen ist das Bild des jahreszeitlichen Verlaufes des Säurestoffwechsels, das durch eine Vorvegetationsperiode mit niedrigstem Säurestand und geringster Umsatzintensität gekennzeichnet ist.

Neben Äpfelsäure treten in Sempervivum glaucum nur ganz geringe Mengen Bernsteinsäure auf. Erstere wurde, wie überhaupt in Sukkulenten, bisher für die optisch aktive, linksdrehende Form gehalten. Bendrat zeigte, daß sie in mehreren Modifikationen vorkommt, und zwar in verschiedener Verteilung je nach dem Blattalter. Alte Blätter enthalten die l-Form und in meist noch größerer Menge die inaktive Säure. Erstere fehlt in jungen Blättern oft ganz, kann aber vorhanden sein. In mittelalten Blättern tritt optisch inaktive und aktive Säure auf, letztere nicht nur als linksdrehende, sondern, besonders nachmittags, auch als rechtsdrehende Form.

Bendrat macht es wahrscheinlich, daß die Apfelsäure in der l-Form entsteht, dann z. T. oxydiert, z. T. razemisiert wird. Ist, wie in den mittelalten Blättern, die Säureoxydation besonders lebhaft, so kann durch Verbrauch des l-Anteils auch der razemischen Säure die Rechtsform zum Vorschein kommen.

Außer Bryophyllum glaucum wurde noch eine größere Anzahl anderer sukkulenter oder halbsukkulenter Pflanzen auf tagesperiodische Säurestoffwechselvorgänge geprüft. Allerdings konnte dies in Anbetracht der sehr zeitraubenden Methoden nur in einzelnen orientierenden Versuchen und zum Vergleich mit dem Hauptobjekt geschehen. Es bleibt demnach zu prüfen, inwieweit diesen Ergebnissen Allgemeingültigkeit zukommt und ob je nach Jahreszeit Ernährung und Entwicklungsstadium nicht wechselnde Verhältnisse angetroffen werden. Eine deutliche nächtliche Absäuerung zeigte Mesembrianthemum cordifolium, welches mehr Oxalsäure als Apfelsäure enthält; dagegen säuern Bryophyllum, Epidendrum und Vanilla wie Sempervivum nachts an. Auch nichtsukkulente Pflanzen können diurnale Säureschwankungen zeigen, wenigstens die untersuchten Orchideen und Bromeliazeen, wobei Billbergia, Portea und Cryptanthus in allen Blättern einen nächtlichen Säureanstieg aufwiesen, während bei Nidularium und Tillandsia die alten Blätter nachts ab-, die jungen ansäuerten.

Diese mit sicheren Methoden festgestellten Eigentümlichkeiten des Säurestoffwechsels sukkulenter und nichtsukkulenter Pflanzen können nunmehr als Grundlage für weitere, mehr intensiv gerichtete Untersuchungen dienen, welche die Abhängigkeit der Erscheinungen von äußeren und inneren Ursachen, die Zusammenhänge mit andern Stoffwechselsphären sowie die chemische Seite des Säure-Metabolismus aufzuklären haben.

3. Der Säurestoffwechsel sukkulenter Crassulaceen[1])

Von Wilhelm Ruhland

Die Äpfelsäure ist unter den organischen Säuren wohl in höheren Pflanzen die am häufigsten und wohl auch in größter Menge auftretende. Ihr Ursprung aus dem N-Stoffwechsel konnte für „Säurepflanzen" (= Ammoniumpflanzen) am Beispiel des Rhabarbers und der Begonie im hiesigen Institut dargetan werden. Bei diesen Pflanzen entsteht sie in einem frühen Stadium der Entwicklung während eines mit den Aufbauprozessen verknüpften, lebhaften N-Umsatzes neben NH_3 bei der Desaminierung der Aminosäuren aus deren C-Skelett in optisch aktiver Form, geht dann in die stabilere inaktive über, um dann weiter zum Herbst hin sehr langsam mehr oder weniger in Oxalsäure umgewandelt zu werden.

Ganz anders die seit langem in Crassulaceen bekannte Äpfelsäure: hier erfolgen Bildung und Verschwinden derselben im Tagesrhythmus, was auf enge Beziehung zum Kohlenhydratstoffwechsel hinweist. In der Tat wurde dieser diurnale Säurestoffwechsel schon seit langem als anomal gesteuerter Kohlenhydratstoffwechsel aufgefaßt.

Nachdem im hiesigen Institut Bendrat mit Hilfe moderner, z. T. neuer Methoden die in den zahlreichen älteren Untersuchungen unbewiesen gebliebene Neuentstehung von Äpfelsäure während der Nacht und die Absäuerung in den Tagesstunden sichergestellt hatte, bestand die weitere, von Wolf[2]) übernommene Aufgabe darin, mit Hilfe der gleichen Methode den physiologischen und chemischen Zusammenhang dieses Säurestoffwechsels mit anderen Stoffwechselgebieten klarzulegen. Hauptversuchsobjekt waren Bryophyllum- und Sempervivum-Arten. Die Untersuchungen haben in wesentlichen Punkten unsere Kenntnisse gefördert, aber noch keine restlose Klarheit zu erbringen vermocht.

Die bisher untersuchten sukkulenten Crassulaceen gehören nicht dem oben erwähnten „Säure"- oder „Ammonium"-Typ, sondern dem

---

1) Aus dem Botanischen Instutnte zu Leipzig.

2) Johannes Wolf: „Beitrag zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukk. Crassulaceen". (Planta XV, 1931, S. 572—644).

ihm gegensätzlichen „Amid“-Typ an, bei dem eine Bildung von Oxysäuren aus N-freien Desaminierungsprodukten neben NH_3 kaum erfolgt. Durch vergleichende Untersuchung des nächtlichen N- und Säurestoffwechsels konnte Wolf mit voller Klarheit zeigen, daß irgendwelche Beziehungen zwischen beiden hier nicht bestehen.

Als Quelle der Äpfelsäure konnte daher nur noch der Kohlehydratstoffwechsel in Betracht kommen, was schon Kraus (1886) und andere aus manchen Beobachtungen geschlossen, aber nicht bewiesen hatten. Da die Säure nachts gebildet wird, mußte eine bilanzmäßige Erfassung der am Nachtstoffwechsel beteiligten Stoffe: Kohlehydrate, Säuren und CO_2 als der richtige Weg zu diesem Beweis erscheinen. Leider ist dieser Beweis trotz aller darauf verwandten Mühe und Sorgfalt nicht geglückt.

Für die Berechnung der Bilanz wurden die eben genannten Stoffe dadurch auf einen gemeinsamen Nenner gebracht, daß ihre Mengen in molekularer Glukoselösung ausgedrückt wurden. Das ist für CO_2 ($6\,CO_2 = 1$ Glukose) nicht schwierig, wohl aber für die Äpfelsäure wegen des noch unbekannten chemischen Mechanismus der Säurebildung. Es wurden 2 Berechnungsweisen durchgeführt: 1. unter der Annahme, daß der gesamte Glukose-C in Äpfelsäure übergeht (1.5 Äpfelsäure = 1 Glukose) und 2. gemäß den Anschauungen von Toeniessen und Brinkmann (1930), wonach aus 1 mol Glukose neben Äpfelsäure noch 2 mol Ameisensäure[1]) entstehen, also 1 Glukose = 1 Äpfelsäure.

Die dem Kohlehydratschwund und der Säurebildung entsprechenden Werte der wie oben aufgestellten Bilanz waren jedoch nur allenfalls in der Größenordnung vergleichbar, doch war die Fehlergrenze der Methode, von wenigen Fällen abgesehen, sehr bedeutend überschritten. Die Unterbilanz lag stets auf Seite der Kohlehydrate. Es darf vermutet werden, daß diese trotz vieler darauf verwandter Mühe nicht vollständig erfaßt worden sind, und daß deshalb die Bilanz scheitern mußte. Auch die Einbeziehung der Pentosen und Hemizellulosen verbesserte sie nicht wesentlich. Ob die von La Forge und Hudson in Sedum spectabile gefundene Ketoheptose auch in den von Wolf zu seinen Versuchen verwandten Crassulaceen auftritt, ist nicht bekannt. Sie würde dann wegen ihrer chemischen Eigenschaften durch

[1]) Von Wolf nie gefunden, aber möglicherweise wegen sekundärer Umwandlungen in nicht ermittelte andersartige Produkte dem Nachweis entgangen.

die von Wolf verwendeten Methoden nicht erfaßt worden sein. An und für sich könnte sie unter Abspaltung eines 3-C-Körpers als solche oder über Glukose Apfelsäure gebildet und die auf der Kohlehydratseite beobachtete Unterbilanz möglicherweise ausgeglichen haben.

An diese Bilanzversuche reihten sich Untersuchungen über die nächtliche Säurebildung in den praktisch nur Apfelsäure enthaltenden Blättern. Unter den inneren Faktoren der nächtlichen Ansäuerung steht das Organalter voran. Freie Säure ist kaum nachweisbar, so daß sich die Gesamtsäure aus saurem und neutralem Malat zusammensetzt. Ersteres ergibt sich titrimetrisch, das neutrale durch dessen Abzug von der analytisch gefundenen Gesamtäpfelsäure. Entstehende freie l-Säure setzt sich mit neutralem Malat zu saurem Salz um, so daß die nächtliche Veränderung vor allem durch beträchtliche Erhöhung des sauren Anteils am Gesamtmalat gekennzeichnet ist, das seinerseits natürlich auch, aber viel geringer zunimmt. Der niedrigste tägliche Säurestand zeigt sich nachmittags zwischen 4 und 6 Uhr, Blätter verschiedenen Alters unterscheiden sich dann nur sehr wenig im Gehalt an sauren Salzen, morgens aber ist der absolute Säureunterschied sehr groß, falls Zu- und Abteilungsvorgänge ausgeschlossen, d. h. die Blätter vorher abgeschnitten waren. Er beträgt das 6 fache der Abenddifferenz, und die Kurve der sauren Salze steigt steil mit dem Blattalter. Noch bedeutender ist die nächtliche Säurezunahme in Blättern, die im Zusammenhang mit der Pflanze belassen waren. Daß die ältesten Blätter — im Gegensatz zu abgeschnittenen — davon ausgenommen sind, ist wohl eine Folge der Ableitung der Kohlehydrate aus ihnen. Im Lauf der Entwicklung häuft sich Gesamtsäure, insbesonders neutrales Malat, solange das Wachstum des Blattes dauert, an, später wird der Gehalt durch Ableitung zu den Bildungsstätten vermindert und ist vor dem Absterben ganz verschwunden.

Unter den die Säurebildung beherrschenden äußeren Faktoren wurden der Temperatur schon von älteren Autoren (Kraus 1886, Warburg 1888 usw.) besondere Beachtung geschenkt. Die maximale Apfelsäurezunahme wurde bei auffallend niederer Nachttemperatur (12—14°) gefunden, so daß der Schluß, mit steigender Temperatur wirke ein immer stärkerer Säureabbau der Ansäuerung entgegen, nahelag. Ermittelbar ist aber nur die Resultante beider Vorgänge, wie sie im Verlauf der Ab- und Ansäuerung zutage tritt. Wolf fand das Maximum der Zunahme an Gesamtsäure bei etwa 20°, an sauren Salzen bei 10°, der tiefsten von ihm geprüften Temperatur.

Neben der Temperatur ist der Sauerstoffdruck von weitgehendem Einfluß auf die Säurebildung. Schon Warburg (1888), Purjewitsch (1892) u. a. betonten die eigentümliche Beziehung zwischen Säure- und Gasstoffwechsel. Während der Ansäuerung wird trotz weitgehendem Sauerstoffverzehr kein CO_2 mehr ausgeschieden. Der Schluß, daß dieser „Extra-Sauerstoff" an der Säurebildung beteiligt ist, wurde durch die Feststellung mangelnder Aziditätszunahme im O_2-freien Raum gestützt. Da hierbei nur titrimetrisch die Spuren freier Säure sowie die sauren Salze erfaßt waren, mußte die Frage des O_2-Einflusses auf die Gesamtsäurebildung erneut untersucht werden. In der Tat zeigte sich auch diese im O_2-freien Raum stark gehemmt bzw. sistiert. Sie kann jedoch auch dann in ganz beschränktem Maße weitergehen, was auf Grund einer Oxydoreduktion bei entsprechendem Vorrat an H_2-Akzeptoren verständlich wäre, deren mangelnde Regenerierung die Geringfügigkeit der anaeroben Säureproduktion erklären würde. Wie Sauerstoffentzug sistiert Blausäure (0.003—0.002 mol pro l) die Äpfelsäurebildung, woraus man auf eine Störung des O_2-Übertragungssystems, und somit auch die oxydative Natur des normalen Vorganges schließen darf. Für die später zu besprechenden Anschauungen des Verf. über den Säurebildungsmechanismus sind endlich noch Narkoseversuche zu erwähnen, in denen sich die Säurebildung deutlich gehemmt erwies.

In ähnlicher Weise wie der Säureaufbau mußte nun auch deren Abbau studiert werden. Schon Bendrat zeigte, daß die Äpfelsäure als l-Form entsteht und bald z. T. razemisiert wird, wie ja auch vom Säureabbau die l-Säure besonders betroffen wird, so sehr, daß auch ihr Anteil an der razemischen Form abgespalten und abgebaut wird. Dabei hat Bendrat zuerst das auch von Wolf bestätigte Auftreten von d-Äpfelsäure konstatiert, die offenbar nicht so ohne weiteres wie die l-Form in den Stoffwechsel einbeziehbar zu sein scheint.

Wenn die nächtliche Säurebildung, wie eine verbreitete Auffassung will, durch gewisse Mangelerscheinungen: ungenügende O_2-Versorgung, niedere Temperatur oder überhaupt geringe Stoffwechselintensität verursacht ist, so müßte es durch deren Beseitigung möglich sein, den Prozeß zu sistieren oder in sein Gegenteil zu verkehren. Die andere Ansicht sieht die Ursache für den Abbau der Säuren in dem Tagesfaktor des Lichts. Die Wirkung desselben könnte sich primär auf die Säure selbst erstrecken oder nur mittelbarer Art sein. Beide Möglichkeiten wurden von Wolf nachgeprüft.

Die erstere (Spoehr 1913 u. a.) stützt sich auf die photolytische Zerstörung von Apfelsäure in vitro. Von den zahlreichen Gründen, die Wolf zu einer Ablehnung der Übertragung auf den vitalen Vorgang veranlassen, seien hier nur folgende in Kürze darstellbare erwähnt: 1. Es findet bei höherer Temperatur und gewissen inneren Bedingungen (hoher Säure- und niedriger Kohlenhydratgehalt) regelmäßig auch bei Verdunkelung eine beträchtliche Säureabnahme statt, der dann ein ganz andersartiger Mechanismus zugrunde liegen müßte. 2. Es gibt, wie Bendrat zeigte, viele äpfelsäureführende Pflanzen ohne tagesperiodische Säureschwankungen, die auch auf intensive Belichtung nicht erfolgten. 3. Andererseits schließen sich auch Belichtung und Säurezunahme nicht aus, wie man z. B. in den frühen Nachmittagsstunden bei noch recht intensiver Insolation beobachten kann. 4. Für den Temperaturkoeffizienten des Säureabbaues bei gleicher Bestrahlungsintensität findet Wolf zwischen 17 und 27° einen Wert über 3, während er bei einer rein photochemischen Reaktion nur 1.1—1.2 beträgt. Die Temperatur dürfte für die Absäuerung wesentlicher als eine direkte Lichtwirkung sein, wenn von ihr überhaupt die Rede sein kann.

Anders die sekundären Lichteinflüsse: Warburg u. a. nahmen einen starken O_2-Mangel sukkulenter Gewebe an, der ja auch als die Ursache für die Säureanhäufung angesehen wurde, und ferner, daß die Assimilation allein eine nennenswerte O_2-Versorgung der Gewebe herbeiführe, die dann mit der Lichtabsäuerung ursächlich verknüpft wurde. Demnach müßte auch durch Hemmung der Assimilation eine entsprechende Verringerung der Absäuerung erhalten werden. Ein Versuch zeigte dies tatsächlich. Indessen läßt sich durch eine Betrachtung, die mehrere chemische Möglichkeiten des in seinem Chemismus ja noch nicht näher bekannten biologischen Äpfelsäurezerfalls umfaßt, und die wir hier in der gebotenen Kürze nicht wiedergeben können, zeigen, daß bei begrenzter Lichtintensität eine CO_2-Abscheidung durch das Blatt anzunehmen ist, welche durch Versuche bestätigt wird. Erhöhung der CO_2-Tension hemmt, wie schon Warburg festgestellt hatte, weitgehend die Assimilation, und da er gleichzeitig eine entsprechende Hemmung der Absäuerung beobachten konnte (trotz Sonnenbestrahlung wurde Säure gebildet!), so schloß er auf eine enge Kopplung zwischen Assimilation und Säure-Abbau. Wolf konnte die Hemmung der Lichtabsäuerung bei erhöhtem CO_2-Partialdruck bestätigen, doch weiter zeigen, daß letzterer auch im Dunkeln, also

unabhängig von der Assimilation den Säureabbau hemmt. Die normale Wirkung der Assimilation beruht also hauptsächlich auf einer Erniedrigung der CO_2-Tension der Gewebe. Natürlich dürfte auch die geförderte Sauerstoffversorgung derselben von Bedeutung sein, sofern es an Sauerstoff für die Absäuerung fehlt. Im O_2-freien Raum ist die Gesamtsäureabnahme, wie Wolf fand, überaus gering.

Die absäuerungshemmende Wirkung eines erhöhten CO_2-Partialdruckes kann darauf beruhen, daß infolge Oberflächenblockierung sowohl die erste Oxydationsstufe im Apfelsäureabbau (Oxalessigsäure) gehemmt wird, als auch darauf, daß durch verhinderte oxydative bzw. synthetische Weiterverarbeitung des Azetaldehyds eine Anhäufung dieses Körpers zustande kommt, wodurch nach Untersuchungen von Wetzel und Ruhland ein weiterer carboxylatischer Abbau der intermediären α-Ketosäuren gehemmt wird. Versuche über die CO_2-Bildung durch Streifen lebenden Blattgewebes von Sempervivum aus zugesetzten Pyruvinatlösungen ergaben, daß das zelleigene Carboxylasesystem morgens bedeutend weniger aktiv ist als abends. Deshalb nimmt Wolf einen kausalen Zusammenhang zwischen verhinderter Carboxylasetätigkeit und Säurebildung dahingehend an, daß 3-C-Intermediärprodukte, deren karboxylatischer Abbau verhindert ist, „oxydative Synthese" eingehen, die zu 4-C-Dikarbonsäure führen. Vorgänge letzterer Art haben Toeniessen und Brinkmann im Tierkörper wahrscheinlich gemacht: Brenztraubensäure — 2 H → Diketoadipinsäure + $2 H_2O$ → Bernsteinsäure + Ameisensäure. Im Blattgewebe ist der Nachweis von freier Ameisensäure bisher allerdings nicht gelungen, was an deren rascher Weiterverarbeitung gelegen haben könnte.

Der typische Betriebsstoffwechsel (d. h. bei Fehlen irgendwelcher CO_2-Abgabe) besteht bis zu etwa 15—20° allein in einer Apfelsäurebildung. Mit steigender Temperatur wird immer mehr CO_2 ausgeschieden, die Carboxylasehemmung ist also aufgehoben. Die energetische Ausnutzung der Kohlehydrate ist vollständiger geworden, so daß also der Verbrauch an letzteren bei 35° kleiner als bei 20° ist. Wolf entwickelt daraus eingehend die Vorstellung, daß die Produkte der primären Spaltung, welche mit steigender Temperatur nach der R-G-T-Regel anwächst, durch eine Pasteursche Reaktion resynthetisiert werden, so daß also der Sauerstoffwechsel der Crassulazeen der tierischen Glykolyse entsprechen würde.

4. Zur Frage der Äpfelsäurebildung in Crassulaceen[1])

Von Karl Wetzel[2])

Während im Rhabarber ganz eindeutige Beziehungen zwischen N- und Säurestoffwechsel vorliegen, scheinen derartige Zusammenhänge nach Untersuchungen von Wolf (1931) bei der durch ihre strenge Tagesperiodizität ausgezeichneten Äpfelsäurebildung in Crassulazeen vollkommen zu fehlen. Hier ist die Äpfelsäure kein Desaminierungsprodukt, vielmehr liegt ihre Entstehung in der Sphäre des Kohlehydratstoffwechsels. Bekanntlich bauen die Crassulaceen tagsüber unter dem Einfluß hoher Bestrahlungsintensität und Temperatur ihren Zucker ganz normal zu CO_2 und Wasser ab, während der nächtliche Zuckerabbau bei niederer Temperatur ohne erhebliche CO_2-Bildung nur bis zur Äpfelsäure, also einem organischen Produkt mit erheblicher Wärmetönung führt. Über den inneren Mechanismus dieser Umstellung im Zuckerabbau wissen wir bis heute so gut wie nichts. Im Hinblick auf bekannte desmolytische Prozesse beim biologischen Zuckerabbau können wir zunächst zwei Möglichkeiten für diese Umsteuerung ins Auge fassen:

1. normaler und nächtlicher Zuckerabbau in Crassulazeen haben die ersten Phasen der Zuckerspaltung gemeinsam. Dann gehen die Wege erst bei der Weiterverarbeitung eines gemeinsamen Intermediärprodukts auseinander. Die Äpfelsäurebildung würde dann wahrscheinlich von einem C_2- oder C_3-Körper ausgehen;

2. der zur Äpfelsäurebildung führende Zuckerabbau in den Crassulaceen beginnt nicht wie der normale Zuckerabbau mit einer Spaltung, sondern setzt sofort mit einer Oxydation ein. Ungeklärt bliebe bei dieser Annahme allerdings noch die Tatsache, daß bei niederer Temperatur die Hemmung der normalen Zuckerspaltung sehr viel stärker ist, als der Wirkung der Temperatur auf chemische Prozesse entspricht.

Auch der glatte und reibungslose Übergang von der einen zur anderen Form des Zuckerabbaus scheint uns für einen Zusammenhang der beiden Prozesse zu sprechen, über den wir im folgenden eine

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Leipzig.

[2]) Wetzel und Ruhland (Planta XV, 1931, S. 568).

auf Literaturangaben und eigene Versuche gestützte Hypothese entwickeln wollen.

Wie in der Mitteilung des einen von uns (Wetzel 1932) näher dargelegt ist, wird die Tätigkeit der Carboxylase schon durch sehr geringe Anhäufungen von Azetaldehyd im Reaktionsmilieu außerordentlich stark gehemmt. Jede Entstehung von Aldehyd wie sie die Decarboxylierung von α-Ketonsäuren und die Desaminierung von α-Aminosäuren mit sich bringt, bedeutet für die Pflanze die Gefahr einer Carboxylaselähmung, sofern der Aldehyd nicht sofort weiter verarbeitet wird. Geht nun der zur Apfelsäure führende Weg des Zuckerabbaus unserer Ansicht entsprechend über die Brenztraubensäure, so wird diese bei gegebener Carboxylasehemmung auf aldehydischer Grundlage nicht decarboxyliert, sondern andern physiologischen Veränderungen zugänglich gemacht. Den Weg dieser Umwandlung der Brenztraubensäure scheint eine von Toenniessen und Brinkmann (1930) im tierischen Organismus beobachtete Bernsteinsäurebildung nach Brenztraubensäureapplikation anzudeuten: die Brenztraubensäure führt möglicherweise nach erfolgter carboligatischer Synthese zu einer 4C-Säure. Die dabei im tierischen Organismus auftretende Bernsteinsäure steht mit der in sukkulenten Crassulaceen angehäuften Apfelsäure in naher stoffwechselphysiologischer Beziehung. Lassen sich nun Hinweise darauf finden, daß Bernstein- bzw. Apfelsäurebildung mit einer Carboxylasehemmung koinzidieren? Und läßt sich des weiteren feststellen, daß an dieser Carboxylasehemmung auch der Azetaldehyd beteiligt sein kann?

In der Tat fehlt es an solchen Hinweisen nicht:

1. die meisten tierischen Gewebe besitzen kein oder nur ein sehr schwach wirksames carboxylatisches System. Entstehende Brenztraubensäure kann also in solchem Gewebe sehr wohl in dem Sinne Toenniessens weiter verarbeitet werden; auch vermag tierisches Gewebe Brenztraubensäure zu Milchsäure zu reduzieren;

2. pflanzliche Organismen ohne carboxylatisches System bauen den Zucker ohne Dekarboxylierung ab (vgl. Bact. caucasicum. Kostytschew u. Afanassiewa 1925);

3. Hemmung der Carboxylasetätigkeit im grünen Blatt durch Zerreiben des Gewebes mit völliger Zellzerstörung leitet in der Anaerobiose die alkoholische in die Milchsäure-Gärung über. Aktivierung der Carboxylase befähigt auch den Blattbrei wieder zur alkoholischen Gärung;

4. das der Hefe in größerer Konzentration zugesetzte Methylglyoxal hemmt in ähnlicher Weise wie Azetaldehyd die Decarboxy-

lierung der Brenztraubensäure und wird von der Hefe nicht zu Alkohol und CO_2 umgesetzt, wie man entsprechend dem Neubergschen Gärungsschema erwarten müßte, sondern zu Milchsäure dismutiert. Lassen sich nun solche aldehydbedingten Carboxylasehemmungen auch im lebenden Blatt nachweisen? Das Auftreten kleinerer Aldehydmengen in Blättern und andern pflanzlichen Organen ist von Klein und Pirschle (1926) nachgewiesen worden. Besonderes Interesse verdient ein Hinweis Kakesitas (1930) auf das gelegentliche Vorkommen von Aldehyd in Blättern sukkulenter Crassulaceen, wobei ganz im Sinne unserer Hypothese eine Erhöhung des Aldehydspiegels mit einer Dämpfung der CO_2-Produktion und einem Äpfelsäureanstieg synchron gingen. Die dabei beobachtete Aldehydkonzentration würde — selbst auf den ganzen Zell-Leib verteilt — hinreichen, um nach unseren Erfahrungen an Hefe die Aktivität der Carboxylase auf weniger als die Hälfte herabzudrücken. Schon in den alten Arbeiten über das physiologische Crassulaceenproblem von de Vries, Kraus, Warburg und Mayer ist immer wieder auf Zusammenhänge zwischen Oxydationshemmung und Säurebildung hingewiesen worden. Aber diese Zusammenhänge können keine direkten sein, auch ist mit einem Hinweis auf eine Oxydationsverminderung nicht erklärt, warum die Crassulaceen bei Sauerstoffmangel statt wie die übrigen Pflanzen zur Alkoholbildung zur Produktion von Äpfelsäure übergehen. Der Kern des Problems liegt weniger an einer herabgesetzten Oxydation, als in einer ausbleibenden Decarboxylierung, denn formelmäßig läßt sich der Alkohol als eine nichtdecarboxylierte Äpfelsäure auffassen, so wie man auch biologisch durch doppelte Decarboxylierung des Dehydrierungsprodukts der Äpfelsäure, nämlich der Oxalessigsäure, zu Azetaldehyd kommt. Fehlt die Möglichkeit einer solchen Decarboxylierung infolge Carboxylasehemmung, so tritt die Reduktion der Ketongruppe der Oxalessigsäure sofort ein, es entsteht Äpfelsäure; findet dagegen eine Decarboxylierung statt, so kann die Reduktion erst am Azetaldehyd einsetzen und es entsteht Alkohol. So läßt sich die Äpfelsäurebildung auch theoretisch ohne weiteres noch von der Oxalessigsäure aus als ein unter Behinderung der Decarboxylierung vor sich gehender Modus einer alkoholischen Gärung auffassen. Jedenfalls ersieht man auch hieraus, daß nicht eine Oxydationshemmung das wesentliche bei der unter Äpfelsäurebildung verlaufenen Zuckerspaltung ist, sondern die mangelnde Decarboxylierung. Auch aus den Versuchen Kakesitas ist zu entnehmen, daß in aldehydvergifteten

Crassulaceenblättern die Decarboxylierung viel stärker gehemmt ist als die Oxydation, denn der Atmungsquotient sinkt in solchen Blättern bis auf 0,3 herab, und von der alkoholischen Gärung aus gesehen ist die Entstehung von Azetaldehyd keine Oxydations-, sondern eine Reduktionshemmung. Man möchte daher eher annehmen, daß irgendein anderer uns unbekannter Stoff gegenüber dem Azetaldehyd als konkurrierender Wasserstoffakzeptor aufgetreten ist. Derartige Störungen werden gelegentlich bei sehr stürmisch verlaufenden Gärungen von Trauben- und Apfelmost beobachtet (Müller-Thurgau und Osterwalder 1914), wobei ebenfalls ein Auftreten von Azetaldehyd konstatiert wurde. In diesem Zusammenhang interessiert nun eine Beobachtung von Thomas (1925), wonach in Äpfeln bei einer durch hohe CO_2-Tensionen stark gehemmten Oxydation Azetaldehyd gefunden wurde. Wie aber Wolf zeigen konnte ist in Crassulaceenblättern bei niederen Temperaturen der Zuckerverbrauch infolge der geringen Wärmetönung des Vorgangs Zucker-Äpfelsäure ein höherer, als wenn (bei höheren Temperaturen) der Zucker vollkommen zu CO_2 und Wasser verbrannt wird. Tatsächlich ist also auch im Crassulaceenblatt Äpfelsäurebildung mit einem gesteigerten Zuckerverbrauch verbunden und bezeichnenderweise ist dieser auch im Crassulaceenblatt wie in Äpfeln mit der Bildung von Azetaldehyd einerseits, ausbleibender CO_2-Bildung und Äpfelsäureanhäufung anderseits gekoppelt. Nach eigenen Untersuchungen wiesen nämlich Blätter von Bryophyllum calycinum morgens einen um 70—75% höheren Aldehydgehalt als am Abend zuvor auf, und demzufolge war auch ihre carboxylatische Wirksamkeit morgens geringer als abends (Wolf). So würde sich also für die Äpfelsäurebildung in Crassulaceen die folgende Ursachenkette aufstellen lassen.

Sauerstoffmangel im Gewebe (Spaltöffnungsschluß?) — erhöhter Zuckerumsatz — Anhäufung von Azetaldehyd — Carboxylasehemmung — Unterbindung der Decarboxylierung der Brenztrauben- bzw. Oxalessigsäure — Reduktion an den Ketonsäuren bzw. deren synthetischen Abkömmlingen, daher Erhaltung der Carboxylgruppen in der Äpfel- bzw. Milchsäure.

Das Kernproblem bei der Äpfelsäurebildung liegt daher nicht unmittelbar in einer Hemmung der Oxydations-, sondern der Decarboxylierungsvorgänge, und damit steht es in unmittelbarer Beziehung zur Aktivität der Carboxylase.

VI

Dissimilation und verwandte Erscheinungen

1. Über die Bestimmung des Atmungsquotienten und seine physiologische Bedeutung[1])

Von Ernst G. Pringsheim

(Mit Unterstützung von F. Jedlitschka und B. Görlich)

Unter dem Respirations- oder Atmungsquotienten (R.Q.) verstehen wir das Verhältnis zwischen abgeschiedener Kohlensäure[2]) und verbrauchtem Sauerstoff[2]) bei der Atmung. Diese scheinbar so klar definierte Größe ist weder leicht zu bestimmen noch der zugrunde liegende Begriff eindeutig festzulegen.

A. Für die Messung des R.Q. bedürfen wir zweier Bestimmungen, derjenigen des Kohlendioxydes und derjenigen des Sauerstoffes. Dabei sind folgende Forderungen zu stellen: 1. Beides soll unter möglichst gleichartigen und natürlichen Verhältnissen geschehen. In einer abgeschlossenen Luftmenge wird mit der Zeit die Zusammensetzung der Atmosphäre verändert. Kleine Verschiebungen der O_2- und CO_2-Tension haben zwar keinen erheblichen Einfluß auf die Atmung; die Veränderungen in der nächsten Umgebung der lebenden Objekte, bzw. Gewebe können jedoch weit größer sein als die im Gesamtdurchschnitt des Luftraumes gemessenen. Deshalb wäre die Messung unter Luftdurchströmung vorzuziehen. Kleine Verschiebungen der O_2-Tension lassen sich aber auf diese Weise schwer feststellen. Die beiden Bestimmungen müssen unbedingt unter gleichartigen Bedingungen vorgenommen werden. Methoden, bei denen CO_2 in bewegter, O_2 aber in ruhender Luft bestimmt wird, sind zu verwerfen. 2. Da die Temperatur von großem Einfluß auf die Atmung ist, muß auf deren Konstanz der größte Wert gelegt werden. 3. Bei keimenden Samen, Pilzkulturen u. dgl., bei denen die Bestimmung des R.Q. besonders bedeutungsvoll ist, treten in kurzer Zeit

---

[1]) Aus dem Pflanzenphysiologischen Institute der Deutschen Universität zu Prag.

[2]) Diese Größen werden im folgenden zuweilen einfach als CO_2 und O_2 bezeichnet.

große Veränderungen auf. Die Meßzeiten müssen also kurz sein, und es muß die Atmung fortlaufend periodisch bestimmt werden können. 4. Dabei ist auch, insbesondere bei keimenden Samen, der Wassergehalt, resp. die Art der Zuführung des Wassers, von großer Bedeutung. Sowohl Überfüllung mit Wasser wie unzureichende Versorgung haben großen Einfluß auf den Gaswechsel. Größere Wassermengen machen zudem die Bestimmung des R.Q. aus rein physikalischen Gründen unmöglich. Geeignete Wasserzufuhr und Konstanz des Wassergehaltes während des Versuches sind also Bedingungen für die Gewinnung brauchbarer Meßergebnisse.

Um diesen Anforderungen zu genügen, wurde ein neues Verfahren ausgearbeitet, bei dem die volumetrische Bestimmung der Veränderungen als die einfachste Methode gewählt wurde. Wird in einem geschlossenen Raum, in dem sich atmende Objekte befinden, Sauerstoff verbraucht und Kohlendioxyd gebildet, so wird das Volumen sich nur dann ändern, wenn der R.Q. von 1 abweicht. Man kann auf diese Weise erkennen, ob der R.Q. $<$, $=$ oder $>$ 1 ist. Über seinen Wert läßt sich nichts aussagen, da die Volumsveränderung in ihrer Größe auch von der Atmungsintensität abhängt. Um diese kennen zu lernen, muß noch eine zweite Bestimmung gemacht werden. Wir wählten den O_2-Verbrauch, der sich volumetrisch ohne weiteres zu erkennen gibt, wenn das entstehende CO_2 durch eine alkalische Flüssigkeit absorbiert wird. Vorausgesetzt, daß die Gasmengen, die gelöst bleiben, vernachlässigt werden dürfen, was durch Verwendung möglichst geringer Wassermengen angestrebt wurde, gewinnt man so aus der 1. Bestimmung O_2—CO_2, aus der 2. Bestimmung O_2, wobei die betreffenden Volumänderungen je nachdem mit positivem oder negativem Vorzeichen eingesetzt werden. Dieses an sich nicht neue, sondern von Ullrich und Ruhland schon 1925 angewendete Prinzip wurde einer a) möglichst einfachen und b) periodisch an gleichem Material wiederholbaren Methode zugrunde gelegt.

a) I. Die Vereinfachung wurde dadurch ermöglicht, daß eine leichte Sperrflüssigkeit wie Petroleum bei verschieden hohem Stand im U-förmigen Meßrohr keine erheblichen Druckunterschiede bewirkt. Man kommt so zu einer volumetrischen Bestimmung von genügender Genauigkeit, welche nicht so umständliche Rechnungen erfordert wie eine manometrische.

II. Die barometrischen Veränderungen während des Versuches wurden durch Anrechnung der Ausschläge eines leeren Kontrollgefäßes unschädlich gemacht.

III. Es wurde auf genaue Bestimmung der Atmungsintensität, d. i. von O_2 und CO_2 verzichtet und nur R.Q. $= CO_2/O_2$ bestimmt. Dabei heben sich die für die Reduktion auf 0° und 760 mm nötigen Rechnungselemente heraus, da es sich um einen Verhältniswert handelt und beide Bestimmungen unter gleichen Temperatur- und Druckbedingungen ausgeführt werden. Ein für die meisten Zwecke hinreichend genaues Maß der Atmungsintensität bekommt man auch ohne Berücksichtigung der Barometerschwankungen.

b) I. Die periodische Wiederholung der Messungen wurde möglich, indem abwechselnd die CO_2 absorbierende Lauge freigelegt und vom Luftraum im Innern des Atmungsgefäßes abgeschlossen wurde. Dies gelang durch Aufsaugen der Lauge in Asbest und Überschichten mit Paraffinöl. Durch Neigen resp. Aufrichten des Gefäßes konnte so die Absorption des CO_2 eingeleitet oder hintangehalten werden.

II. Durch Verwendung eines nicht zu großen Atmungsgefäßes und eines engen Volumeterrohres konnte die Meßperiode auf 15 (oder 30) Minuten herabgesetzt werden. Zwei solcher Meßperioden ergeben die gesamte, zur Bestimmung des R.Q. nötige Meßzeit, so daß im Laufe eines Tages Meßreihen mit bis zu 20 Einzelbestimmungen durchgeführt werden können.

III. Um die natürliche Zusammensetzung der Luft immer wieder herzustellen, mußte außer der Absorption des CO_2 auch Wiederauffüllung mit O_2 von gleicher Temperatur bis zum Druckausgleich mit der freien Atmosphäre erfolgen. Eine vollkommene Erneuerung der Luft im Atmungsgefäß war nicht nötig.

IV. Die Durchführung der Messung erfolgte in der Weise, daß nach Anpassung des Apparates an die Temperatur des Wasser-Thermostaten zunächst mit verdeckter Lauge (I) $O_2 - CO_2$ bestimmt wurde. Da fast immer $CO_2/O_2 < 1$ war, zeigte sich ein Unterdruck, der mit O_2 ausgeglichen wurde. Darauf erfolgte die Freilegung der Lauge. Nach der festgesetzten Zeit wurde von neuem abgelesen. Der Unterdruck bedeutete nun das in der 2. Meßperiode verbrauchte O_2+ das in der 1. Meßperiode erzeugte CO_2, also (II) $O_2 + CO_2$.

Vorausgesetzt, daß innerhalb dieser Gesamtmeßzeit keine Veränderung der Atmung stattgefunden hatte, konnten die beiden ge-

messenen Größen unbedenklich zur Errechnung von O_2 und CO_2 verwendet werden. Es ergab sich:

$$\text{R.Q.} = \frac{\text{II}-\text{I}}{\text{II}+\text{I}} = \frac{O_2+CO_2-O_2+CO_2}{O_2+CO_2+O_2-CO_2} = \frac{2\,CO_2}{2\,O_2}$$

Nach neuerlichem Bedecken der Lauge und Wiederauffüllen mit O_2 unter Kontrolle des Volumeters konnte wieder eine Bestimmung von I erfolgen usf.

B. Welches ist nun die Bedeutung der so bestimmten Reihen von R.Q.?

1. Da die normale Atmung ein Verbrennungsprozeß ist, bei dem die gesamte organische Substanz zu CO_2, H_2O usf. verbrannt wird, so muß der R.Q. von der Art des Substrates abhängen, welches in den Atmungsprozeß gerissen wird. Verhält sich die Zahl der Wasserstoffatome zu der der Sauerstoffatome wie in Wasser, so daß der gesamte Kohlenstoff zu CO_2 wird, so muß R.Q. = 1 sein. Das ist der Fall bei allen Kohlehydraten, bei Essigsäure und Milchsäure. Fette (und auch Eiweißstoffe) dagegen bedürfen einer größeren O_2-Menge, d. h. R.Q. $<$ 1. Viele Pflanzensäuren bewirken umgekehrt R.Q. $>$ 1. Ist die Verbrennung unvollkommen, so wird ebenfalls weniger Sauerstoff verbraucht, indem entweder „halboxydierte" Substanzen, etwa Säuren entstehen oder sogar relativ reduzierte Verbindungen wie Alkohol und Aldehyd. Ist gar kein O_2 vorhanden, so wird R.Q. = ∞.

2. Die gemessenen Werte spiegeln nicht immer die Natur des Atmungssubstrates wieder. Die einzelne Gewebszelle läßt sich nicht auf ihre Atmung hin untersuchen. Örtliche Unterschiede kommen nicht klar heraus; wenn das Atmungssubstrat wechselt, wird nur ein Durchschnittswert ermittelt. Man denke an den Embryo und das Endosperm keimender Samen, die sich allerdings auch getrennt untersuchen lassen.

3. Ebenso können zeitliche Unterschiede infolge vorübergehender Entstehung von Produkten eines abweichenden Oxydationszustandes entstehen, die dann erst später in die Atmung hineingerissen werden. Bei Fettsamen entsteht z. B. während der Keimung Kohlehydrat, wozu O_2 verbraucht wird, ohne daß CO_2 gebildet würde.

4. Es ist unmöglich anderweitige Oxydationen in der lebenden Zelle von Atmungsvorgängen im engeren Sinne zu trennen. Energie kann auch bei ihnen frei werden und ausgenutzt werden. Die einzig richtige

Definition der Atmungsprozesse versteht unter ihnen Dissimilationsvorgänge, durch die der Energiegehalt des Systemes sich verringert. Die Verbrennungswärme der Atmungs- (und Gärungs-)produkte ist geringer als die des Ausgangsmateriales. Die Unterscheidung von Kostytschew zwischen den Oxydationsvorgängen bei der Atmung und anderem O_2-Verbrauch ist daher abzulehnen. Ebenso seine Meinung, daß nur die CO_2-Produktion, nicht aber der O_2-Verbrauch ein Maß der Atmungsstärke sei. Beide Größen und auch ihr Verhältnis sind heranzuziehen, um die Atmung vorläufig zu charakterisieren. Zum völligen Verständnis sind weitere chemische und physikalische Bestimmungen nötig, die bis jetzt noch in den Anfängen stecken.

5. Außer den örtlichen und zeitlichen Unterschieden im Verhalten der atmenden Zellen, die die Bestimmung des R.Q. erschweren, sind auch noch die Bedingungen zu berücksichtigen, unter denen die physiologischen Prozesse sich abspielen. Neben O_2-Tension und Temperatur ist bei Samen vor allem die Art der Wasserzufuhr praktisch von Bedeutung. Die Atmungsintensität steigt mit der zunehmenden Quellung stark an. Ein Einquellen unter Wasser kann aber durch Erschwerung des O_2-Zutritts die Einleitung intramolekularer Umsetzungen bewirken, besonders bei höherer Temperatur. In manchen Fällen, so bei Erbsen, ist dieser Vorgang selbst bei vorsichtiger Wasserzuführung nicht zu verhindern, weil die gequollene Samenschale Gase schwer durchläßt. Unter solchen Umständen muß R.Q. >1 werden. Als Nachwirkung der Atmung bei O_2-Mangel tritt umgekehrt unter den Bedingungen genügender O_2-Versorgung ein zu niedriger R.Q. auf, weil relativ reduzierte Zwischenprodukte nun der Verbrennung anheim fallen.

6. Die bisherigen Untersuchungen litten vielfach unter solchen Fehlern. Man ließ die Samen unter Wasser quellen und dann in dampfgesättigtem Raum atmen. Durch O_2-Mangel oder dessen Nachwirkung wurden die Ergebnisse gefälscht, worüber erst durch kritische Vergleichsversuche und vor allem durch die mit Hilfe unseres Verfahrens möglich gewordene zeitliche Verfolgung der Atmung am gleichen Material Klarheit gewonnen werden konnte. Die früher vorliegenden, sich z. T. widersprechenden Ergebnisse wurden dadurch verständlich.

7. Die Mängel der Untersuchungsmethodik hatten ferner verhindert dem „wahren" R.Q. näher zu kommen, worunter das auf Grund des Atmungsmaterials zu erwartende Verhältnis verstanden werden

soll. Auch wir konnten uns diesem Ziele nur ein wenig nähern, ohne es ganz zu erreichen. Jedenfalls konnte festgestellt werden, daß die Unterschiede zwischen den verschiedenen Samenarten nicht so groß sind wie vielfach angegeben. Vor allem geht der R.Q. bei Fettsamen nicht so tief herunter wie z. B. Godlewski angibt. Die niedrigen Werte erklären sich aus der starken intramolekularen Atmung solcher Objekte, welche, ebenso wie bei Leguminosen, mit dem Eiweißreichtum in Beziehung stehen dürfte.

Die bekannte Regel, daß „Stärkesamen" einen höheren, „Fettsamen" einen niedrigeren R.Q. haben, bleibt trotzdem bestehen, aber nur bei Betrachtung der ganzen Gruppe. Das zeigt die folgende Zusammenstellung:

Beziehungen zwischen Reservestoffen und Atmungsquotienten

Stärke-Samen		Fett-Samen	
Pisum sativum	0,90	Ricinus communis	0,65
Lens esculenta	0,83	Cuburbita Pepo	0,80
Phaseolus vulgaris	0,92	Cucumis sativus	0,67
Vicia sativa	0,82	Cucumis Melo	0,60
Secale cereale	0,87	Helianthus annuus	0,75
Triticum sativum	0,88	Brassica Napus	0,86
Zea Mais	0,72	Impatiens Balsamina	0,85
Fagopyrum esculentum	0,91	Convolvulus tricolor	0,74

Aus ihr ersieht man, daß Linsen, Wicken und besonders Mais einen verhältnismäßig niedrigen, Kürbis, Raps und Balsamine einen relativ hohen R.Q. aufweisen. Beim Mais kann die Ursache der Fettreichtum des Embryos, bei den beiden Leguminosen die Veratmung von Eiweiß sein. Bei den drei „Fettsamen" mag das erste Atmungsmaterial eine andere Verbindung sein und gar nicht Fett. Darüber könnten nur eingehende chemisch-analytische Untersuchungen belehren, denen hierdurch ein Ziel gewiesen ist.

Der R.Q. 1 wurde in unseren Untersuchungen von keimenden Samen in keinem Fall erreicht. Die Ursache kann kaum in der physikalischen Speicherung von CO_2 gesucht werden, denn bei Blättern von Tradescantia viridis und Weizen bekamen wir im Dunkeln genau den Wert 1, obgleich wegen des größeren Wassergehaltes eine

stärkere CO_2-Speicherung zu befürchten gewesen wäre als bei keimenden Samen.

8. Die Ursache, weshalb auch wir den wahren R.Q. vielfach nur in erster Annäherung bestimmen konnten, läßt sich kaum beseitigen. Sie liegt in den oben erwähnten Umsetzungen während der Keimung. Wenn z. B. in Fettsamen ein Teil der Fettsäure in Kohlehydrate übergeht, so muß, wie das schon Godlewski und Bonnier und Mangin gewußt haben, in diesem Prozeß O_2 verbraucht werden. Theoretisch ließe sich aus der Menge des verschwindenden Fettes und des entstandenen Kohlehydrates sowie deren empirischer (elementaranalytischer) Zusammensetzung berechnen, wieviel von dem verschwundenen O_2 auf Kosten dieses Umsatzes und wieviel auf die eigentliche Atmung kommt, woraus dann der R.Q. sich entnehmen ließe.

Zwei Hindernisse stehen aber diesem Vorgehen entgegen: 1. fanden wir bei solcher Berechnung, daß andersartige Zwischenprodukte entstehen müssen, wodurch die ganze Rechnung hinfällig wird, solange nicht Natur und Menge dieser Substanzen bekannt ist. 2. wissen wir in solchen Fällen nicht, ob das Fett selbst in den Atmungsstoffwechsel gerissen oder zu Kohlehydrat oxydiert, und dann dieses veratmet wird. Am Gaswechsel ist das nicht erkennbar.

Aus den genannten Gründen ist auch die Verfolgung des R.Q. von der Quellung bis zur Keimung und bis zum Beginn der selbständigen Vegetation des Keimlings nur von beschränktem Wert. Die Überlagerung des Gaswechsels bei den verschiedenen Umsetzungen macht eindeutige Schlüsse unmöglich und kann nur in großen Zügen den Gang des Stoffwechsels widerspiegeln. Überhaupt hat die Bestimmung des R.Q. nicht die Bedeutung, die ihr zugeschrieben wurde. Sie kann die physikalisch-chemische und chemisch-analytische Erforschung der Umsetzungen bei der Atmung, die jetzt die Hauptaufgaben sind, nicht ersetzen. Wohl aber kann sie sehr gut die Wege weisen, die jene zu gehen haben.

Zudem wird die Feststellung des R.Q., die mit unserer Methode so einfach geworden ist, nun an einer größeren Zahl von Objekten geschehen können, wodurch sicher Besonderheiten des Stoffwechsels zum Vorschein kommen werden, die bisher verborgen bleiben mußten.

2. Ergänzende Untersuchungen über den Atmungsquotienten[1])

Von Ernst G. Pringsheim

(Mit Unterstützung von F. Jedlitschka)

Die in der Mitteilung 1 und einer größeren Arbeit in der Planta (1933, Bd. 19) beschriebene einfache Methode zur Bestimmung des Atmungsquotienten (R.Q.) wurde auf eine größere Zahl weiterer Objekte angewendet. Die keimenden Samen hatten sich als besonders schwierig erwiesen, weil mit der Umwandlung der Reservestoffe ein ständiger Wechsel der Stoffwechselvorgänge innerhalb kurzer Zeit verbunden ist.

Zum Vergleich herangezogene Blätter hatten in Übereinstimmung mit gelegentlichen Versuchen von Ullrich und Ruhland (1928) nichts von den außerordentlichen Unterschieden zwischen verschiedenen Arten und Alterszuständen und von den teilweise sehr niedrigen R.Q. gezeigt die Bonnier und Mangin festgestellt haben. Jene waren zu dem Schluß gekommen, daß ein verhältnismäßig großer O_2-Verbrauch bei Blättern, also niedriger R.Q., im Zusammenhang mit einem hohen Gehalt an Harzen oder ätherischen Ölen steht. Sie stellen sich offenbar vor, daß diese dabei oxydiert werden, was aus mehreren Gründen nicht richtig sein kann. Dagegen erschien der von ihnen gefundene Unterschied zwischen jungen und alten, überwinternden Blättern der gleichen Art nicht unwahrscheinlich wegen der in solchen aufgespeicherten Reservestoffe.

Unsere neuen Messungen haben bestätigt, daß die R.Q. bei Blättern in noch weit engeren Grenzen schwanken als die von Keimlingen. Selten sinken sie unter 0,9, nie steigen sie über 1. Die Atmungsintensität freilich ist recht verschieden. Tab. I.

Eine Abweichung des R.Q. von dem üblichen Wert war weder bei harzreichen Kiefernadeln, noch bei den mit ätherischem Öl versehenen Blättern von Eukalyptus und Ruta zu finden. Bonnier und Mangin haben für Pinus silvestris und Eucalyptus globulus 0,8, für Ruta angustifolia 0,7 angegeben. Auch weichen in unseren Messungen

[1]) Aus dem Pflanzenphysiologischen Institute der Deutschen Universität zu Prag.

alte und junge Blätter von Efeu, Eukalyptus und Kiefer im R.Q. nicht voneinander ab. Nur die Atmungsintensität ist verschieden und zwar bei alten Blättern nur halb bis selbst ein Drittel so groß als bei jungen. Unsere Messungen wurden allerdings alle im Sommer vorgenommen. Die Werte von Bonnier und Mangin wurden im Winter bestimmt.

Tabelle I. Blätter

Artname	Pflanzenteil	Tag	Atmungsintensität	Temperatur	R.Q.
Bougainvillea spectabilis	Blätter	3. u. 4. 11.	33, 34	30°	0.9
Tradescantia viridis . .	"	5. u. 6. 11.	9, 9	30°	1.0
Triticum sativum . . .	Junge Blätter	13. 11.	31	30°	1.0
Hedera helix	" "	4. 7.	9	28°	1.0
" "	Alte "	7. 7.	4	28°	0.9
Eucalyptus globulus . .	Junge "	7. 7.	25	28°	0.9
" " . .	Alte "	8. 7.	12	28°	0.9
Ruta graveolens	Beblätterte Sprosse	10. 7.	20	28°	0.9
Pinus silvestris	Junge Nadeln	13. 7.	48	28°	0.9
" "	Alte "	12. 7.	15	28°	0 .9
Taxus baccata	Junge Triebe	15. 7.	10	28°	0 .9

Auch bei Blüten ist die Abweichung von 1 gering. Nur bei Rotklee fanden wir einen niedrigen R.Q. Einen Einfluß des ätherischen Öles konnten wir auch hier nicht finden. Drei von den sechs Werten entsprachen genau der Kohlehydratveratmung. Tab. II.

Tabelle II. Blüten

Artname	Pflanzenteil	Tag	Atmungsintensität	Temperatur	R.Q.
Robinia pseudacacia . .	Rispenstücke	16. 6.	40	28°	0.9
Bellis perennis	Köpfchen	17. 6.	28	28°	1.0
Rosa „La France“ . .	Blütenblätter	19. 6.	37	28°	1.0
Sambucus nigra	Rispenstücke	22. 6.	34	28°	0.95
Philadelphus spec. . . .	Blüten	21. 6.	24	28°	1.0
Trifolium pratense . . .	Köpchen	23. 6.	23	28°	0.8

Die Ergebnisse an keimenden Samen hatten gezeigt, daß die Beziehungen zwischen Reservestoffen und R.Q. zwar deutlich, aber nicht so durchsichtig sind, wie man geglaubt hat. Im Zusammenhang mit der bisher allgemein angenommenen Theorie von Godlewski kann

man für reifende Samen gewissermaßen das spiegelbildliche Verhalten zu dem der keimenden annehmen. Wenn also z. B. bei den Reservestoffen eines Samens die Fette überwiegen, so daß der R.Q. bei der Keimung kleiner als 1 ist, so muß dort, wo dieses Fett aus Assimilaten entsteht, ein R.Q. größer als 1 gefunden werden. In der Annahme, daß diese Umwandlung in den reifenden Samen vor sich geht, dürfen bei ihnen entsprechende Abweichungen von 1 erwartet werden. Diese Vermutung hat sich nicht bestätigt. Tab. III. 1—5.

Tabelle III. Samen

Artname	Pflanzenteil	Tag	Atmungsintensität	Temperatur	R.Q.
Prunus armeniaca . . .	unreife Samen	30. 6.	9.5	28°	0.5
Helianthus annuus . . .	ganz unreife Früchte	7. 9.	43	28°	1.0
„ „ . . .	etwas ältere „	9. 9.	3.6	28°	0.9
Citrullus vulgaris . . .	frische Samen	11. 9.	14	28°	0.9
Prunus domesticus . . .	„ „	15. 9.	2.5	28°	0.8
Cytisus Laburnum . .	unreife Samen	28. 6.	58	28°	1.1
Phaseolus coccineus . .	„ „	3. 10.	22	25°	1.2
Pisum sativum	„ „	29. 9.	21	25°	1.00

Wir sehen also, daß R.Q. in den untersuchten Fällen, außer bei ganz unreifen Sonnenblumenkernen, nicht einmal 1 erreicht. Entweder gehen die Umsetzungen bei der Ablagerung der Speicherstoffe so allmählich vor sich, daß ihr Einfluß auf den R.Q. nicht erkennbar ist, oder die Umwandlung der Assimilate in sauerstoffärmere Verbindungen finden gar nicht in den Samen statt, sondern anderswo.

Es ist bisher nicht beachtet worden, daß dieselbe Frage für Proteine als Reservestoffe gilt. Auch diese sind sauerstoffärmer als Kohlehydrate und haben deshalb einen Verbrennungsquotienten kleiner als 1. Entstünden Eiweißstoffe in den reifenden Samen, so müßte wiederum ein hoher R.Q. erwartet werden. Bei den 3 Objekten, die wir untersucht haben (Tab. III, 6—8), wich R.Q. nicht sehr von 1 ab. Bei Phaseolus ging er freilich aus unbekannten Gründen nach einigen Stunden hinauf.

Wird die niedrige Oxydationsstufe nicht an den Ablagerungsstellen erzielt, so müssen entsprechende Verbindungen zugeleitet werden. In diesem Falle könnte die Sauerstoffabspaltung entweder in den Blättern oder auf dem Wege zum Reservestoffbehälter stattfinden.

Ersteres ist für die Eiweißstoffe wahrscheinlich, letzteres könnte aber immerhin noch für die Vorstufen der Fette gelten. Am ehesten wäre dabei an eine Umwandlung der Stoffe an provisorischen Speicherorten zu denken, wie sie zum Beispiel bei den Leguminosen die Fruchtwände, bei den Compositen die Gewebe im Körbchenboden und den Involukralblättern darstellen. In keinem von diesen Fällen wurde ein R.Q. größer als 1 gefunden. (Tab. IV.)

Tabelle IV. Unreife Trockenfrüchte

Artname	Pflanzenteil	Tag	Atmungsintensität	Temperatur	R.Q.
Cytisus Laburnum . . .	Ganze, unreife Früchte	24. 6.	15	28°	0.9
Chelidonium majus . .	" " "	26. 6.	24	28°	1.0
Heracleum Sphondylium	" " "	30. 6.	21	28°	0.8
Pisum sativum	Grüne Hülsen	3. 7.	26	28°	1.0
Helianthus annuus . . .	Mark aus dem Fruchtboden	4. 10.	24	25°	1.0

Schließlich finden in Früchten auch dann lebhafte Umsetzungen statt, wenn auf einen säurereichen ein zuckerreicher Zustand folgt. Zur Ergänzung der chemisch-analytischen Untersuchungen früherer Autoren wurde deshalb der R.Q. saftiger Früchte gemessen. Meist bewegte er sich auch hier innerhalb der Grenze der anderen untersuchten Pflanzenteile (Tab. V). Bei Pflaumen (blaue Zwetschgen),

Tabelle V. Saftige Früchte

Artname	Pflanzenteil	Tag	Atmungsintensität	Temperatur	R.Q.
Prunus domestica . . .	Ganze Früchte	13. 9.	1.4	28°	2.5
" " . . .	" "	20. 9.	1.1	25°	3.2
" " . . .	Früchte geschält und halbiert	27. 9.	1.2	25°	3.3
Malus prunifolia f. coccinea	Ganze Früchte	16. 9.	7	28°	0.9
Sorbopirus auricularis .	" "	18. 9.	9	28°	0.9
Vitis vinifera	Ganze Beeren	19. 9.	3.4	28°	1.6
Sambucus nigra	" "	22. 9.	7.2	25°	1.2
Berberis vulgaris . . .	" "	23. 9.	10	25°	1.2
Prunus spinosa	Ganze Früchte	25. 9.	3.8	25°	1.8
Rosa canina	Reife Hagebutten	26. 9.	4	25°	0.7

Weinbeeren und Schlehen war er aber zum ersten Male wirklich sehr viel größer als 1. Diese Abweichung müssen wir nach Berücksichtigung verschiedener Fehlerquellen für real halten. Es ist auffallend, daß es sich in allen drei Fällen um besonders zuckerreiche, von einer mit Wachs bedeckten Schale überzogene Früchte handelt. Intramolekulare Atmung, die aus Sauerstoffmangel im Innern erklärbar wäre, müßte mit der Zeit eine erhebliche Alkoholanreicherung zur Folge haben, die schon am Geschmack erkennbar wäre. Das ist nicht der Fall. Auch geschält und geteilt hatten die Zwetschgen einen sehr hohen R.Q. Die Frage bleibt also offen. Hier finden sich Anknüpknüpfungspunkte für weitere Untersuchungen. Bei den anderen in Tab. V aufgeführten Früchte fällt auf, daß die Höhe des R.Q. ungefähr dem Luftgehalt entgegengesetzt läuft. Starke Entwicklung des interzellularen Systemes geht mit niedrigem R.Q. einher. Hollunder und Berberitze schließen sich in ihrem R.Q. am ehesten dem der saftreichen Früchte an. Die geringe Größe gleicht wohl den Sauerstoffmangel im Innern bis zu einem gewissen Grade aus.

3. Das Absterben der Pflanze bei Sauerstoffmangel[1]

Von Wilhelm Ruhland

Die Ursache des Absterbens von Pflanzenzellen und -geweben bei Luftmangel, also unter anaeroben Bedingungen, hat nicht nur rein wissenschaftliches, sondern auch ein praktisches Interesse, da solche Bedingungen z. B. bei Massenlagerung atmender Früchte und Samen in Speicherräumen oft gegeben sind. Seit Pasteur (1872) ist bekannt, daß gewöhnliche, also aerobe Pflanzen bei Sauerstoffabschluß ähnlich wie Hefe Alkohol bilden und CO_2 abgeben („Anaerobe Atmung"). Die Pflanze „erstickt" also nicht, sondern lebt zunächst weiter, doch stellen sich gewöhnlich bald schädliche Wirkungen des O_2-Entzuges ein. Fast alle höheren Pflanzen stellen sofort das Wachstum ein, die Keimung wird unterbrochen usw., bis schließlich ganze Organe und die Pflanzen selbst absterben, falls nicht rechtzeitig wieder Sauerstoff zugeführt wird. Die Ursache des Absterbens ist nie näher untersucht worden, es liegt nahe, an Selbstvergiftung durch die sich anhäufenden Betriebsstoffwechselprodukte (Alkohol, Azetaldehyd) und Mangel an Betriebsenergie zu denken.

Diese Lücke unserer Kenntnisse suchte Grünberg[2]) auszufüllen, in dem er die Lebensdauer in Anaerobiose (bei vollständigem Ersatz der Luft durch Stickstoff) unter den verschiedensten Bedingungen beobachtete. Für die Feststellung des jeweiligen Zustandes der Zellen oder Gewebe dienten geeignete makro- und mikroskopische Methoden, unter letzteren vornehmlich auch die Beobachtung im Dunkelfeld und die Prüfung des physikochemischen Zustandes des Protoplasmas mit der plasmolytischen Methode, die den Schädigungsgrad des Objektes zahlenmäßig (Verhältnis der plasmolysierten zu den überhaupt vorhandenen Zellen) auszudrücken erlaubte. Unter „Lebensdauer" versteht der Verf. die Zeit, nach der noch 50% der Gesamtzellen plasmolysierbar waren.

Beginnen wir mit denjenigen Faktoren, welche die Lebensdauer oder -intensität in Anaerobiose gleichermaßen beeinflussen wie in

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Leipzig.

[2]) Gottfried Grünberg: „Über die Ursachen des Zelltodes in Anaerobiose". Planta XVI, 1932, S. 433—466.

Aerobiose, also keine spezifische Rolle bei der anaeroben Atmung spielen, als Grundlage für alles weitere.

Temperatur: Die Zunahme toter Zellen pro Zeiteinheit wird mit der Zeit immer größer, so daß irgendeine Schädigung der noch lebenden durch getötete Zellen angenommen werden kann. Mit steigender Temperatur nimmt die Lebensdauer ab, der „Temperaturkoeffizient" (d. i. die Zahl der Temperaturgrade, welche die Temperaturerhöhung betragen muß, um die Lebensdauer der Zellen auf die Hälfte zu verkürzen) beträgt z. B. für Epidermiszellen von Begonia Kewensis zwischen 6 und 19° C etwa 5, um dann rasch kleiner zu werden, d. h. eine Temperatursteigerung wird relativ schädlicher, bis etwa bei 27° C eine solche die dann nur noch $1^1/_2$ Stunden betragende Lebensdauer nicht weiter verkürzt.

Jonenwirkung: Sie wurde (u. a. an Zwiebelepidermis) untersucht, da die spezifische Wirkung irgendeines Jons auf die anaeroben Umsetzungen nicht ausgeschlossen schien, doch konnte eine solche nicht gefunden werden. Kationen (als Chloride) und Anionen (als K-Salze) wirkten, gemäß den bekannten lyotropen Reihen, also wie in Aerobiose, in der die Schädigung aber erst weit später zutage trat, so daß sich in jener die schädlichen Faktoren kombinieren müssen. Nach Ansäuerung zeigte sich die Umkehrung der Jonenreihe auch in Anaerobiose, wenn Puffergemische von Tartrat, Sulfat und Chlorid in m/10 Konzentration, bis zu $p_H = 5$ mit den jeweiligen freien Säuren versetzt, angewendet wurden.

Säuren: Die Wirkung einiger organischer Säuren wurde weiterhin geprüft, da toxische Wirkungen von anaeroben Stoffwechselprodukten aus toten Zellen exosmierten Körpern usw. dieser Art erwartet werden mußten. Die Lösungen wurden als Puffer der freien Säure mit den zugehörigen K- und Na-Salzen verwandt. Mit zunehmender H-Jonenkonzentration sank die Lebensdauer der Zellen in den meisten Säuregemischen ziemlich gleichmäßig. Nur Wein- und Maleinsäure bildeten eine auffällige Ausnahme, insofern sie von $p_H = 4{,}5$ bis zu 5, im Gegensatz zu den hierbei noch sehr schädlichen anderen Säuren einen enormen Anstieg der Lebensdauer der Objekte bewirkten. Mit einigen bemerkenswerten Ausnahmen, so der sehr giftigen, großmolekularen Zitronensäure, zeigte sich eine gewisse Gesetzmäßigkeit, indem die toxische Wirkung bei gleichem p_H mit steigendem Molekulargewicht ziemlich deutlich abnahm. Da die Salze mit organischen Anionen gemäß der Ultrafiltertheorie permeieren

(Ruhland, Ullrich und Yamaha), so muß danach die Giftigkeit der Säureionen in Beziehung zu ihrem Eindringen in das Zellinnere stehen.

Wichtiger noch erschien die Frage nach den spezifischen, den Zelltod in Anaerobiose bewirkenden, d. h. bei aerober Atmung nicht beteiligten inneren Faktoren. Dahin gehört zunächst der für die Anaerobiose charakteristische hohe Stoffverbrauch, der zu Hungererscheinungen und Mangel an Betriebsenergie (Kohlehydrate) führen muß. In der Tat konnte Grünberg an den verschiedensten Pflanzen, wie Bellis perennis, Sempervivum, Laburnum vulgare, Gleditschia, auch höheren (Elodea) und niederen (Spirogyra) Wasserpflanzen stets feststellen, daß die Lebensdauer in Anaerobiose desto größer war, eine je größere Menge von Kohlehydraten verfügbar war. An nicht besonders vorbehandelten Pflanzen (Bellis) zeigten Blumenblätter, Wurzelspitzen, jüngste Blätter und Stengelspitzen die stärkste Schädigung. Im Gegensatz dazu bleiben Orte mit größerem Gehalt an Kohlehydraten einerseits und geringerem Verbrauch andererseits, wie ältere Blätter (Bellis), Keimblätter an Keimpflanzen (Laburnum), mittlere Stammteile usw., lange erhalten. In die gleiche Richtung weist die Beobachtung, daß belichtete Blätter (Laburnum, Gleditschia) länger anaerobiotisch leben als verdunkelte, und bei gleicher Belichtung alte stärkereichere länger als junge. Auch Spirogyra, vorbelichtet bzw. vorverdunkelt, verhielt sich analog. Bemerkenswerterweise vertrugen die aeroben Kontrollen eine außerordentlich viel längere Verdunkelung, so daß nicht allgemeine Hungererscheinungen, sondern in der Tat der durch den großen anaerobiontischen Stoffverbrauch verursachte oder beschleunigte Energiemangel das Absterben bewirkt haben. An verdunkelten Elodeablättern konnte denn auch gezeigt werden, daß derselbe Effekt der Lebensverlängerung bei O_2-Ausschluß auch durch Zufuhr von Traubenzucker oder Brenztraubensäure, die weitgehend die Assimilate ersetzen und anaerob veratmet werden können, zu erzielen ist.

Eine gewisse Besonderheit zeigen Pflanzen mit stark saurem Zellsaft. Wegen ihrer kurzen Lebensdauer in Anaerobiose erzielt man an ihnen Hungererscheinungen nur durch Vor-Verdunkelung der Blätter (z. B. Begonia-Arten). An solchem Material bewirkt aber auch bei ihnen Glukose-, Fruktose- und Brenztraubensäure-Zufuhr Lebensverlängerung, allerdings nur bis zu einer Versuchstemperatur von etwa 22°. Höher aufwärts ist keine Wirkung der Zucker mehr fest-

zustellen, wohl weil bei diesen Temperaturen zu rascher Verbrauch stattfindet, als daß er bei der geringen Zuckerpermeabilität der Zellen genügend ersetzt werden könnte. Dagegen wirkte die kleiner-molekulare und deshalb besser permeirende Brenztraubensäure im ganzen untersuchten Temperaturbereich (bis 30°) lebensverlängernd. Sehr auffallend und kaum erklärlich ist übrigens die Wirkung der Weinsäure, die eine weder von Hexosen noch der Brenztraubensäure auch nur annähernd bewirkte Lebensverlängerung im ganzen Temperaturbereich hervorruft.

Wenn man dagegen bei Begonia die Vorverdunkelung unterläßt, so verkürzt umgekehrt eine Traubenzuckergabe die Lebensdauer. Auch sind hier die älteren Blätter die empfindlichsten. Bei der ebenfalls sehr säurereichen Oxalis Deppei ist die anaerobe Lebensdauer frischer Blätter kürzer als vorverdunkelter. In diesen Fällen sind offenbar nur schwer eruierbare stoffwechselphysiologische Besonderheiten im Spiele, die uns zu den in der Anaerobiose auftretenden giftigen Zwischen- oder Endprodukten überleiten mögen.

Bringt man Gewebestücke einer Pflanze in bestimmte Flüssigkeitsmengen, so ist die anaerobe Lebensdauer unter sonst gleichen Bedingungen abhängig von dem Verhältnis Zellmenge zu Flüssigkeit in dem Sinne, daß der Zelltod um so früher erfolgt, je größer dieses Verhältnis ist und zwar so genau, daß man durch die Wahl dieses Verhältnisses oft eine für die Untersuchung erwünschte Lebensdauer im voraus abschätzen und dann auch erzielen kann. Am frühesten starben die nur im feuchten Raum befindlichen Gewebestücke. Das bedeutet natürlich, daß bei der Anaerobiose entstehende Gifte in die Außenlösung exosmieren, die je nach ihrer Menge verdünnend und lebensverlängernd wirkt, während die Giftstoffe in wenig Außenflüssigkeit angehäuft werden und den Tod herbeiführen. Bewiesen wird das z. B. dadurch, daß Außenlösungen, in denen Zellen (Zwiebelepidermis) durch längere Anaerobiose geschädigt waren, auf frische Zellen schon nach ganz kurzer Zeit tödlich wirken. Daß nicht etwa der Zellsaft der abgestorbenen Zellen, sondern wirklich die anaerobiontisch entstandenen Stoffe giftig gewirkt haben, zeigt z. B. ein Versuch, bei dem Zellen aerob in verdünntem Preßsaft nach der 20fachen Zeit noch keinerlei Schädigung erkennen lassen.

Welcher Art sind nun diese Giftstoffe? Die Beantwortung der Frage erfordert natürlich besondere chemische Untersuchungen, die nicht im Plan der Arbeit lagen. Doch konnte in folgender Weise

dargetan werden, daß bei der anaeroben Atmung in weiter Verbreitung eine giftige Säure als Stoffwechselprodukt gebildet werden muß, die aus den Zellen austritt und bei der anaerobiotischen Schädigung offenbar eine hervorragende Rolle spielt: Wenn Grünberg der Außenlösung einen Puffer (am besten eignete sich Phosphatpuffer, m/15 Na_2HPO_4 — m/15 KH_2PO_4) zusetzte, der stärkere Ansäuerung verhindert, so blieben z. B. Schnitte der Küchenzwiebel bei geeigneter Temperatur wochenlang in Anaerobiose am Leben. Dabei ist begreiflicherweise die Pufferungskapazität das wesentliche, wie z. B. vergleichende Versuche mit verschiedenen Konzentrationen zeigten, bei denen der p_H übereinstimmte. Mit Phosphatpuffer behandelte Zellen zeigen auch weit geringere Abhängigkeit der Lebensdauer vom oben besprochenen Verhältnis von Gewebe- zu Flüssigkeitsmenge, da eine Anhäufung der von der lebenden Zelle in die Außenlösung ausgeschiedenen oder mit dem Zellsaft toter Zellen in dieselbe diffundierende Säure durch den Puffer verhindert wird.

Unter den grünen Pflanzen nehmen einige Wasserpflanzen, Chara, Nitella und Elodea bezüglich ihrer Anaerobiose insofern eine Sonderstellung ein, als schon in der älteren Literatur ihre auffallende Unempfindlichkeit gegen O_2-Entzug betont wird. Elodea scheidet bei der Assimilation aus dem $Ca(HCO_3)_2$ des Wassers $CaCO_3$ ab, das an der Blattoberfläche haftet. Die Vermutung, daß diese Kruste die Ursache der erwähnten Resistenz darstellt, bestätigt sich. Wurden nämlich die Blätter vor der Anaerobiose mit einem völlig unschädlichen Phosphatpuffer von $p_H = 6,8$ in m/30 Konzentration 10 Min. lang vorbehandelt, also der Kalküberzug teilweise weggelöst, dann gewaschen und in die O_2-freien Versuchsgefäße gebracht, so zeigte sich die Lebensdauer gegenüber unbehandelten Blättern wesentlich verkürzt. Das gleiche gilt für Chara und Nitella, die ebenfalls Kalk ausscheiden. Kalkzugabe wirkt auf die Lebensdauer von Zwiebelschnitten natürlich ebenso günstig wie der Phosphatpuffer.

Bei Pflanzen mit stark sauren Zellsäften, die, wie oben erwähnt, besonders empfindlich gegen Anaerobiose sind, konnte in folgender Weise durch experimentellen Eingriff eine Lebensverlängerung bewirkt werden: Blätter von Begonia Kewensis wurden in eine m/100 Harnstofflösung in Tottinghamscher Kulturflüssigkeit gebracht, die Gefäße zur Injektion 5 Minuten evakuiert, gewaschen und im feuchten Raum unter O_2-Ausschluß aufgehängt. Harnstoff dringt

unschwer in die Zellen ein, ist wenig schädlich und die im Zellinnern vorhandene Urease spaltet aus ihm NH_3 ab, der dort den p_H erhöhen, also Säurevergiftung hintanhalten wird. Ebenso wie Vorbehandlung mit Harnstoff wirkt bei Säurepflanzen eine solche mit dem sonst so giftigen Ammoniak in geeigneten Konzentrationen in auffallender Weise lebensverlängernd. Bemerkenswert ist noch, daß, wie besondere Versuche lehrten, deren Einzelheiten der Kürze halber hier übergangen werden mögen, bei solchen Begonienblättern die einzelnen Gewebe eine ihrem besonderen p_H entsprechende Anaerobioseempfindlichkeit zeigen; das saure Wassergewebe eine viel größere als das viel weniger saure Chlorenchym. Die rasche Vergiftung der Blätter in Anaerobiose geht dabei vom ersteren aus, wie vergleichende Versuche mit isolierten und kombinierten Stücken von beiderlei Geweben eindeutig dartaten.

Aber nicht nur die bei der Anaerobiose gebildete Säure, so verbreitet diese offenbar bei den verschiedensten Objekten auftritt, sondern auch andere anaerobiotische Stoffwechselprodukte können Giftwirkung entfalten. Dahin dürfte auch das allerdings nur intermediär entstehende Azetaldehyd gehören. Thomas und Harley haben aus anaerobiotischen Äpfeln und Birnen neben Alkohol immer auch Azetaldehyd isoliert, dessen Menge der des ersteren zwar nachsteht, aber giftiger ist als dieser. Beide Autoren beobachteten das breakdown der Früchte immer dann, wenn eine bestimmte Azetaldehydkonzentration erreicht war. Bei Versuchen, die Grünberg mit Zwiebelepidermen anstellte, ergab sich eine auffallende Lebensverlängerung durch Zufügung von Kalziumbisulfit, das bekanntlich ersteres bindet. Dabei müßte der Azetaldehyd exosmieren, um mit dem außerhalb der Zellen befindlichen Ca-bisulfit in Berührung zu gelangen.

Auch der bei anaerobiotischer Atmung entstehende Alkohol dürfte am Zelltode toxisch beteiligt sein, doch tritt seine Wirkung neben den stärkeren anderen hier besprochenen Faktoren wenig hervor.

Es würde hier zu weit führen, auch noch auf die von Grünberg beobachteten Änderungen der physikochemischen Eigenschaften einzugehen, die die Zelle in Anaerobiose erleidet. Wichtiger für uns ist das allgemeine Ergebnis, daß für den anaerobiotischen Tod verschiedene Ursachen verantwortlich zu machen sind, deren Einzelwirkungen sich kombinieren, die aber unter geeigneten Versuchsbedingungen weitgehend isoliert und so einzeln zur Wirkung gebracht oder wirkungslos gemacht werden können.

4. Beiträge zur Kinetik der Carboxylasewirkung [1])

Von Karl Wetzel

Die Arbeit [2]) stellt einen ersten Versuch dar, eine einheitliche Auffassung über die verschiedenen Formen des anaeroben Zuckerabbaus im Mikroorganismus und in höheren Pflanzen anzubahnen. Wie u. a. aus unserer kurzen Mitteilung über die Äpfelsäurebildung in Crassulazeen (Wetzel u. Ruhland 1931) hervorgeht, scheint die Carboxylase für die Steuerung des biologischen Zuckerabbaus eine gewisse Schlüsselstellung inne zu haben. Vom Grad ihrer Aktivität hängt möglicherweise die Natur der Gärungsendprodukte weitgehend ab. Daher schien es wünschenswert die Faktoren und Bedingungen kennen zu lernen, welche die Aktivität der Carboxylase zu beeinflussen vermögen.

Zunächst wurde die Wirkungsspezifität der Carboxylase einer neuerlichen Prüfung unterzogen. Im Gegensatz zu verschiedenen Forschern und in Übereinstimmung mit Neuberg ließ sich an 23, verschiedenen Gruppen angehörigen organischen Säuren, zeigen, daß die Carboxylase scharf auf α-Ketonsäuren spezifisch eingestellt ist. Nur die Mesoxalsäure machte insofern eine Ausnahme, als sie trotz ihrer α-Ketonsäurenatur sehr giftig auf das Ferment wirkte. Die übrigen Ketonsäuren wurden glatt decarboxyliert. Dagegen erwiesen sich die Pflanzensäuren, die keine α-Ketongruppe besitzen, resistent gegen das Ferment. Ihrem weiteren desmolytischen Abbau geht wohl im allgemeinen eine Umbildung zur Ketonsäure voraus. Hinsichtlich der Spezifität stimmten Hefen- und Samencarboxylase durchaus überein. Von Lupinenmehl wurde allerdings auch l-Äpfelsäure angegriffen, aber es ließ sich durch entsprechende Gestaltung der Versuchsbedingungen leicht nachweisen, daß an diesem Abbau die Carboxylase nicht unmittelbar beteiligt ist. Wie in den Arbeiten von Wolf (1931) und von Wetzel und Ruhland (1931) näher begründet ist, liegt eine gewisse Wahrscheinlichkeit vor, daß die Aktivität der Carbo-

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Leipzig.

[2]) Wetzel, K.: „Beiträge zur Kinetik der Carboxylasewirkung und ihre Bedeutung für die Steuerung des biologischen Kohlehydratabbaus". Planta XV, 1932, S. 697—738.

xylase für den Zuckerabbau in Sukkulenten eine bedeutsame Rolle spielt. Da die Steuerung des Zuckerabbaus in Sukkulenten besonders stark von der Temperatur beeinflußt wird, derart, daß bei Temperaturen unter 20° der Zucker fast ohne CO_2-Bildung zu Apfelsäure umgebaut wird, lag eine Prüfung dec Temperaturquotienten der Carboxylaseaktivität in verschiedenen Temperaturbereichen nahe. Im Gegensatz zu den Angaben Neubergs ließ sich auch unterhalb 8° C noch eine deutliche Carboxylasewirkung wahrnehmen. Die Temperaturquotienten zeigen eine gewisse Abhängigkeit von der Reaktion des Gärmilieus. Sie steigen gegen das $H^{\cdot}$-Konzentrationsoptimum im allgemeinen an, was wohl mit einer erhöhten Stabilität des Ferments gegen autolytische Destruktion bei dieser Reaktion zusammenhängen dürfte. Ein auffallend hoher Quotientenwert zwischen 20 und 30° wurde jedoch nicht gefunden. Das beweist, daß die Umsteuerung des Zuckerabbaus bei den Sukkulenten keine direkte Temperaturwirkung auf die Carboxylase sein kann. Wenn diese Umsteuerung mit einer Inaktivierung der Carboxylase zusammenhängt, so müssen die störenden Faktoren anderer Natur sein. Gegen derartige Zusammenhänge zwischen Art des Zuckerabbaus und Carboxylaseaktivität schienen zunächst allerdings 2 Tatsachen zu sprechen:

1. die relativ hohe Stabilität der Carboxylase, worin sie das die Zuckerspaltung einleitende Ferment wesentlich übertrifft, so daß ein Zuckerabbau unter Bedingungen, welche die Carboxylase hemmen, schwer denkbar war,

2. übertrifft die Carboxylase die beim Zuckerabbau vor ihr wirksamen Teilfermente auch an Aktivität, so daß sie innerhalb der normalen Zymasegarnitur niemals ganz vollbeschäftigt ist und man schon eine sehr starke Schädigung der Carboxylase setzen müßte, um die Dekarboxylierung der intermediär entstehenden Brenztraubensäure zu verhindern. Euler konnte indes zeigen, daß die Stabilität der Carboxylase doch nicht so allgemein eine größere ist als die anderer zymatischer Teilfermente.

So ist die Carboxylasewirkung durch alkalische Reaktion stärker gehemmt als die Spaltung des Zuckers in den 3 C-Körper. In Übereinstimmung hiermit konnte Bernbach durch Karbonatzusatz zum Gärmedium Brenztraubensäure „abfangen". Da für das Auftreten derartig hoher Schwankungen im natürlichen Gärmedium bisher zumindest noch jegliche Anhaltspunkte fehlen, wird man einer der-

artigen Ursache für die Umsteuerung des Zuckerstoffwechsels in den Crassulazeen wenig Wahrscheinlichkeit beimessen können.

Eine andere Störungsmöglichkeit der Carboxylasewirkung schien mir dagegen in einer giftigen Wirkung der Spaltprodukte der Brenztraubensäuredecarboxylierung selbst liegen zu können. Dem stand allerdings die Angabe Neubergs entgegen, daß die Carboxylase eine sehr erhebliche Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol und auch gegen Azetaldehyd besitze, und von der Unschädlichkeit der CO_2 gegen die Carboxylase habe ich mich selbst in einer ausgedehnten Versuchsreihe überzeugt. Dagegen stiegen mir erhebliche Bedenken gegen die vermeintliche Ungiftigkeit des Azetaldehyds bei der Beobachtung des zeitlichen Verlaufs der Brenztraubensäuregärung auf: ganz im Gegensatz zur Zuckergärung läßt die Vergärung der Brenztraubensäure nach anfänglich stürmischem Verlauf rasch nach, um trotz Substratüberschusses nach kurzer Zeit auf ein Minimum herabzusinken. Durch gestaffelte Zusätze von reinstem Azetaldehyd zu den Gäransätzen konnte ich dann auch tatsächlich eine bisher völlig übersehene außerordentlich starke Giftigkeit des Azetaldehyds auf die Carboxylase feststellen. Bereits eine Konzentration von 0,06% Azetaldehyd im Gärmedium setzte die Carboxylaseaktivität auf die Hälfte herab, und ein Gehalt von 2% Azetaldehyd hob die Carboxylasewirkung so gut wie vollständig auf. Die Abhängigkeit der Carboxylaseaktivität von dem Azetaldehydgehalt wurde als sehr einfache Beziehung gefunden: die aus brenztraubensaurem Kali unter sonst gleichen Versuchsbedingungen ausgespaltene CO_2-Menge erwies sich als der Wurzel der jeweils vorliegenden Aldehydmenge umgekehrt proportional:

$y = \frac{k}{\sqrt{x}}$ (wo y die pro Zeiteinheit produzierte CO_2-Menge, x die Aldehydkonzentration und k eine von der Natur des Aldehyds abhängige Konstante ist. Von ähnlich giftiger Wirkung wie auf Hefencarboxylase erwies sich der Azetaldehyd auch auf Samencarboxylase. Andererseits wirkten auch andere Aldehyde wie Form- und Butylaldehyd giftig auf das Ferment, wenn sie auch die Giftigkeit des Azetaldehyds nicht erreichten.

Physiologisch von hohem Interesse war jedenfalls die Tatsache, daß die Carboxylaseaktivität schon durch relativ sehr geringe Aldehydmengen stark herabgesetzt werden konnte. Für unser Problem der bio-

logischen Zuckerabbauwege wurde die Bedeutung dieser Beobachtung noch durch die andere gesteigert, daß andere Teilprozesse der Zuckerspaltung wie z. B. die Dephosphorylierung von Hexosediphosphat und die die Zuckerspaltung einleitenden Fermente insgesamt viel unempfindlicher gegen Azetaldehyd sind, so daß damit ein Zuckerabbau unter Ausschaltung der Carboxylasetätigkeit in den Bereich des Möglichen gerückt wird.

Was nun den Mechanismus der beobachteten Carboxylasehemmung durch Azetaldehyd anbetrifft, so ließ sich zeigen, daß die Aldehydwirkung eine momentane ist, denn mit Aldehyd vorbehandeltes und normales Ferment gaben bei gleichen Aldehydkonzentrationen im Gärmedium schon in den ersten Versuchszeiten gleiche CO_2-Ausschläge. Des weiteren ließ sich zeigen, daß die schädliche Aldehydwirkung reversibler Natur ist: bereits $^1/_4$stündiges Abdampfen des aldehydvergifteten Fermentmaterials im Vakuum bei 30° hob die Giftwirkung vollkommen auf. Die Anlagerung des Azetaldehyds an die Carboxylase kann daher nur eine relativ lose sein. Die Abhängigkeit der Giftwirkung von der Konzentration des Aldehyds sowie die relative Giftigkeit von Azet- und Formaldehyd, die in bestimmtem Verhältnis zur Molekülgröße der betreffenden Stoffe steht, lassen die Möglichkeit einer adsorptiven Bindung des Aldehyds an das Ferment zu. Andererseits liegen doch auch Hinweise auf eine allerdings lockere Strukturbindung vor. Widmark (1920—1925) und Boklund (1930) haben nämlich zeigen können, daß bestimmte chemische Körper, nämlich Aminosäuren und Amine, auf Brenztraubensäure ähnlich decarboxylierende Wirkungen ausüben können wie das carboxylatische Ferment, und diese Reaktion ist bemerkenswerterweise ebenfalls aldehydempfindlich. Der Azetaldehyd bildet dabei mit der Aminogruppe eine sog. Schiffsche Base und zerstört damit das Vermögen des ursprünglichen Aminokörpers, auf Brenztraubensäure einzuwirken. Wenn wir auch die chemische Konstitution der Carboxylase so wenig wie die der meisten anderen Fermente kennen, so ist es für die Erklärung der Wirkungsweise doch schon von großer Wichtigkeit, die aktive Fermentgruppe zu kennen und diese scheint bei der Carboxylase eben eine Aminogruppe zu sein.

Die Aldehydschädigung der Carboxylase ist im übrigen nicht die einzige Störung, welche in den Ablauf der Pyruvinatgärung eingreifen kann. Besonders in länger dauernden Versuchen machte sich eine über die Grenzen der durch die Anwesenheit von Azetaldehyd

bedingten Schädigung hinausgehende Hemmung der Carboxylaseaktivität bemerkbar, die auch in völlig aldehydfrei gehaltenen Ansätzen auftrat und im Gegensatz zur Aldehydhemmung irreversibler Natur war. Auch ließ sich zeigen, daß diese Fermentschädigung in keinem direkten Zusammenhang mit Gärvorgängen steht, sondern auf autolytischen Prozessen im Fermentmaterial selbst beruht, d. h. die Carboxylase wird selbst als Substrat für andere Fermente von diesen zersetzt. Wie alle Fermentvorgänge erwiesen sich auch diese autolytischen Zerstörungsprozesse abhängig von der Reaktion des Mediums und von der Temperatur: bei 20° ist eine Schädigung nur im stark sauren und im alkalischen Gebiet zu beobachten, aber schon bei 30° bleibt das Ferment bei 1stündiger Vorbehandlung nur mehr beim p_H von 5.5 ungeschädigt. Bezeichnet man als kritische Temperatur diejenige, bei der die Fermentwirkung auf die Hälfte der normalen Höhe absinkt, so liegt diese bei den verschiedenen Reaktionen des Gärmediums folgendermaßen:

p_H des Gärmediums	Kritische Temperatur
4,75	31°
5,0	37°
5,5	39°
6,5	39°
7,0	35,7°
7,5	unter 20°

Physiologisch interessant ist die Tatsache, daß das Stabilitätsoptimum bezüglich der Reaktion mit dem Wirkungsoptimum des Ferments zusammenfällt. Welches Ferment die Carboxylase schädigt, soll in eingehenderen Untersuchungen noch ermittelt werden. Entsprechend der aktiven Fermentgruppe der Carboxylase wird man zunächst an ein oder mehrere proteolytische Fermente denken müssen. Natürlich ist es auch nicht ausgeschlossen, daß eine gewisse Schädigung durch $H^{\cdot}$ und OH' selbst bedingt ist, die dann vielleicht mehr den Träger als das Ferment selbst treffen. Diese Möglichkeit darf um so mehr als gegeben betrachtet werden, als auch andere Jonen die Fermentaktivität herabsetzen. So konnten wir beobachten, daß Vorbehandlung des Ferments im Citratpuffer im Gegensatz zu derjenigen im Phosphatpuffer gleicher $H^{\cdot}$-Jonenkonzentration eine erhebliche Fermentschädigung setzte. Eine derart hemmende Wirkung

entquellender Jonen ist übrigens nichts Neues. So kennen wir eine entsprechende Wirkung des Oxalations auf die Zymase und des Fluoridions auf den enzymatisch induzierten Zerfall von Hexosediphosphat. Der zeitliche Verlauf dieser autolytischen Fermentschädigung läßt auf relativ einfache chemische Prozesse hierbei schließen. Im Zeitbereich von 30—360 Minuten ließ sich eine einheitliche Inaktivierungskonstante unter Zugrundelegung der Annahme einer monomolekularen Reaktion berechnen.

Aldehyd- und Autolysenempfindlichkeit der Carboxylase machen besondere Vorsicht bei kinetischen und vergleichenden Versuchen an diesem Ferment nötig. Vor allem wird man versuchen müssen, die Versuchsdauer nach Möglichkeit zu reduzieren, um so evtl. Fermentschädigungen zu vermeiden. Leider ist das bisher in den einschlägigen Versuchen nur sehr unvollkommen beobachtet worden. Daher bedürfen auch die Untersuchungen über den sog. Neuberg-Quotienten durchaus einer Korrektur, denn in den vergleichenden Versuchen über die Vergärungsgeschwindigkeit von Glukose und Brenztraubensäure ist infolge einer Aldehydhemmung, die nur im letzteren Fall in Wirkung treten konnte, die Gärgeschwindigkeit der Brenztraubensäure stets zu klein angegeben worden. Aber auch die Untersuchungen über die Abhängigkeit der Carboxylasewirkung von Außenfaktoren wie Reaktion und Temperatur konnten von diesen Fehlerquellen nicht unberührt geblieben sein, und es mußte sich der Fehler nach der Richtung hin äußern, daß die günstigen Bedingungen, die an und für sich eine lebhafte Pyruvinatgärung ermöglichten, infolge der damit verbundenen Aldehydanhäufung nur sehr abgestumpft zum Ausdruck kamen, und auch in fermentkinetischen Untersuchungen mußten mit fortschreitender Versuchszeit sich steigernde Fehler ergeben. Es sind daher die Wirkungen von Reaktion und Temperatur auf die Carboxylaseaktivität einer erneuten Prüfung unter den gebotenen Kautelen unterzogen worden, deren Ergebnisse hier nur kurz skizziert werden können:

Das p_H-Optimum der Carboxylaseaktivität ist kein feststehendes, es ändert sich vielmehr weitgehend mit der Temperatur: zwischen 0 und 15° liegt es etwa beim Neutralpunkt; zwischen 20 und 30° ist ein breiter optimaler Bereich zwischen p_H 6 und p_H 7 festzustellen, mit einem steilen Abfall nach der alkalischen, einem zunächst flacheren, dann aber auch rasch steiler werdenden Abfall nach der sauren Seite hin. Mit höheren Temperaturen wechselt das Bild aufs neue: das

p_H Optimum liegt von 35—55° bei ph 5.5. Die Wirkungskurven fallen nach der sauren Seite hin allgemein sehr rasch, nach der alkalischen Seite bei 35 und 40° noch langsam, dann aber mit steigender Temperatur ebenfalls immer steiler, so daß das p_H-Optimum mit zunehmender Temperaturhöhe immer schärfer herausgehoben wird. In ähnlicher Weise lassen sich natürlich auch die Temperaturkurven mit wechselndem p_H der Gärflüssigkeit betrachten. Im optimalen p_H-Bereich zwischen p_H 5.5 und 6.5 liegt die wirksamste Versuchstemperatur bei 40° und verschiebt sich mit zunehmender Entfernung von der optimalen Reaktion sowohl nach der sauren wie auch nach der alkalischen Seite hin immer mehr nach tieferen Temperaturen hin, was natürlich mit der Instabilität des Ferments gegen autolytische Prozesse zusammenhängt. Außerdem schiebt sich von beiden Seiten her der Temperaturwirkungsbereich erheblich zusammen. Die von Hägglund und Mitarbeitern (1926 und 1927) veröffentlichten p_H-Kurven der Brenztraubensäurevergärung haben deshalb nur beschränkte Gültigkeit, nämlich nur für die angewandte Versuchstemperatur. Daher kommt ihnen auch nur eine sehr eng begrenzte biologische Auswertbarkeit zu.

Von besonderem physiologischen Interesse war für mich noch das Verhalten der Carboxylase gegenüber dem Methylglyoxal, das nach Neuberg offenbar bei den verschiedenen Zuckerabbautypen als Intermediärprodukt auftritt. Um so auffallender und befremdender ist die Tatsache, daß dieser Ketonaldehyd nicht zu CO_2 und Alkohol vergärbar ist, sondern auch von Hefe zu Milchsäure dismutiert wird. Diese auffällige Tatsache läßt sich nun durch unsere Versuchsergebnisse erklären: Methylglyoxal hemmt die Carboxylase in ähnlicher Weise wie Aldehyd und verhindert dadurch offenbar die Entstehung von CO_2 aus Brenztraubensäure, wobei die letztere möglicherweise dann der Reduktion zu Milchsäure anheimfällt. In der folgenden Mitteilung wird auf Zusammenhänge zwischen alkoholischer und Milchsäure-Gärung noch näher eingegangen werden.

5. Das carboxylatische System im grünen Blatt[1])

Von Karl Wetzel[2])

Bei Sauerstoffentzug geht die CO_2-Ausscheidung im grünen Blatt bekanntlich nach dem Mechanismus der alkoholischen Gärung weiter. Allerdings entspricht dabei der Quotient CO_2: Alkohol nicht immer dem aus der Gärgleichung zu fordernden theoretischen Wert. Nach Kostytschew liegt der gefundene Wert bei grünen Blättern bei etwa 2. Es wird also im Verhältnis zu CO_2 etwas zu wenig Alkohol gefunden. Die physiologische Ursache für diese Abweichung wird in einer demnächst erscheinenden Mitteilung dargelegt werden. Immerhin bleibt die Fähigkeit auch der höheren Pflanze zur Alkoholbildung als eine in zahlreichen Versuchen erwiesene Tatsache bestehen. Als CO_2 abspaltendes und gleichzeitig die Alkoholbildung einleitendes Ferment kennen wir dank der Untersuchungen Neubergs nur die Carboxylase. Um so verwunderlicher war daher eine Mitteilung von Kobel und Scheuer (1929), wonach das grüne Tabakblatt kein karboxylatisches System besitzen sollte. Die Autoren verwendeten bei ihren Versuchen fein zerriebenen Blattbrei und schlossen von dessen Verhalten gegen Brenztraubensäure auf dasjenige lebender Blätter. Nun ist seit Neubergs Untersuchungen bekannt, daß fein zerriebenes Blattmaterial der verschiedensten Herkunft ganz allgemein die Fähigkeit besitzt, Methylglyoxal zu Milchsäure zu dismutieren. Auch Kobel und Scheuer fanden an ihrem Blattmaterial dieses Milchsäurebildungsvermögen, das nach Neuberg auf die Tätigkeit eines spezifischen Ferments, der Ketonaldehydmutase zurückzuführen ist. Diese glatt verlaufende Milchsäurebildung im toten Pflanzenbrei erscheint um so verwunderlicher, als die Milchsäurebildung im lebenden grünen Blatt noch nicht zweifelsfrei sichergestellt ist.

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Leipzig.

[2]) K. Wetzel, Das carboxylatische System im grünen Blatt". Planta XVII, 1932, S. 1—14.)

Für das Problem des biologischen Zuckerabbaus schienen mir nun zwei Fragen von besonderem Interesse zu sein:

1. auf welche Weise bildet das grüne Blatt bei der vermeintlichen Abwesenheit eines carboxylatischen Fermentsystems Alkohol und CO_2?

2. wie kommt im toten Blattbrei die auffallende Umstellung des Zuckerabbaus von der alkoholischen Gärung zur Milchsäurebildung zustande?

Die erste Frage machte eine erneute Prüfung des Blattmaterials auf An- oder Abwesenheit von Carboxylase nötig. Schon die Tatsache, daß zerriebenes Blattmaterial zwar noch auf phosphorilierten Zucker, jedoch nicht auf stabile Hexose anspricht, legt die Vermutung nahe, daß dieses Fermentmaterial arm an Co-Zymase sein wird. Diese Annahme bestätigte sich: durch Zusatz von Hefe-Kochsaft (der selbst ohne Wirkung auf Hexosediphosphat war und auch keine im biologischen Prozeß CO_2 liefernden Stoffe enthielt) zu Blattbrei konnte die CO_2-Bildung aus Zucker-Phosphatlösungen unter Sauerstoffausschluß aufs dreifache gesteigert werden. Die Tatsache, daß lebende Blätter derselben Pflanze unter Sauerstoffausschluß zur Alkoholbildung befähigt waren, läßt den Schluß zu, daß auch im Blattbreiversuch eine der CO_2 äquivalente Menge Alkohol entstanden sein wird. Traf diese Annahme zu, so mußte der Blattbrei unter entsprechenden Bedingungen auch auf Brenztraubensäure wirken. Dem widersprachen zunächst die Versuchsergebnisse: der Blattbrei verschiedener Pflanzen blieb ohne erkennbare Wirkung auf die Pyruvinatlösung auch bei optimalen Versuchsbedingungen. Eine Ausnahme machte hiervon nur der Brei von Spinatblättern, die sich allerdings infolge eines erheblichen Schleimgehalts nie bis zur Zerstörung aller Zellen zerkleinern ließen. Und hierin liegt auch der Grund für das abweichende Verhalten des Spinatpräparats. Es ließ sich nämlich zeigen, daß unbeschädigte Zellen auch anderer Blätter aus Pyruvinatlösungen CO_2 in Freiheit setzten. Da hierbei gleichzeitig Azetaldehyd nachweisbar wurde, und zwar bis zu etwa 50% der zusätzlichen CO_2-Menge, blieb kein Zweifel darüber bestehen, daß das lebende grüne Blatt ein normales carboxylatisches System besitzt, das offensichtlich unter der Wirkung des mechanischen Zerkleinerns der Blätter inaktiviert wurde. Wendet man etwas mildere Präparationsmethoden wie z. B. vorsichtiges Trocknen bei etwa 35° an, so bleibt die carboxy-

latische Wirksamkeit auch im toten Blattpulver wenigstens teilweise erhalten. Aber auch der unwirksame Blattbrei kann wieder carboxylatisch aktiviert werden: setzt man dem Blattbrei Hefekochsaft zu, so wird nicht nur das Zuckergärungsvermögen reaktiviert, sondern der Blattbrei reagiert nun auch sehr kräftig auf Pyruvinatlösungen. Wenn man diese Wirkung nur an der CO_2-Produktion mißt, könnte man den Einwand machen, daß das zugesetzte Pyruvinat nur die Induktionszeit der Zuckergärung verkürzt und so eine Pyruvinatvergärung vortäuscht, ohne selbst angegriffen zu werden. Diesem Einwand ist indes leicht zu begegnen, indem man neben der CO_2 auch den entstandenen Azetaldehyd bestimmt. Liegt nur eine aktivierte Zuckergärung vor, so kann sich bei dem oxydoreduktionsmäßig ausgeglichenen Zuckergärsystem kein Azetaldehyd anhäufen, während bei der Pyruvinatdecarboxylierung mangels verfügbarem Gärungswasserstoff Azetaldehyd halten kann (abgesehen von der sekundär erfolgenden Azetoinbildung). Tatsächlich gelang es auch in den mit Hefekochsaft aktivierten Pyruvinat-Blattbreiansätzen Azetaldehyd bis zu 55% des zusätzlich entwickelten CO_2 nachzuweisen. Damit war erwiesen, daß auch der Blattbrei ein carboxylatisches System besaß, das infolge der mechanischen Zellzerstörung zwar inaktiviert war, aber durch Co-Zymasezusatz wieder zur Tätigkeit angeregt werden konnte. Damit läßt sich die eingangs gestellte Frage nach der Herkunft des in grünen Blättern unter anaeroben Bedingungen entstehenden Alkohols dahingehend beantworten, daß hier wie bei der alkoholischen Gärung der Hefe, die Brenztraubensäure die Vorstufe des Alkohols, den Azetaldehyd liefert. Die intramolekulare Atmung der höheren Pflanzen ist also nicht nur ihrem Endergebnis nach, sondern auch bezüglich des Reaktionsweges mit der typischen alkoholischen Gärung identisch.

Es blieb noch zu ermitteln, worin die durch das Zerreiben der Blätter gesetzte Schädigung des carboxylatischen Systems genauerhin bestand. Zunächst möchte man natürlich geneigt sein, eine Schädigung der Carboxylase selbst anzunehmen. Aber schon die Reaktivierungsfähigkeit des Systems durch carboxylasefreien Hefekochsaft schließt eine derartig einfache Möglichkeit aus. Durch die Arbeiten von Abderhalden und Auhagen sind wir von der Existenz einer Co-Carboxylase unterrichtet worden. Nach den Angaben des letzteren Autors läßt sich die Co-Carboxylase aus dem Hefekochsaft gewinnen, und da dieser nicht nur die Zucker-, sondern auch die Pyruvinatgärfähigkeit

des zerriebenen Blattmaterials wiederherstellt, wird man die Co-Carboxylase des Kochsafts für diese Reaktivierung verantwortlich machen müssen, die ihrerseits offensichtlich bei der mechanischen Zellzerstörung besonders stark geschädigt wird. Damit ist jedoch nicht gesagt, daß die Carboxylase selbst von dem Zerreiben der Blätter ganz unberührt geblieben ist. Da es jedoch nicht möglich ist, in lebenden und zerriebenen Blättern das Pyruvinat in gleicher Weise an das Fermentsystem heranzubringen (Permeabilitätsverhältnisse), so ist auch eine vergleichende Bestimmung der carboxylatischen Aktivität der beiden Systeme ohne Beweiskraft für die vorliegende Frage. Dagegen ließ die Frage sich auf anderem Wege lösen. Die Abwesenheit intermediärer Gärprodukte im alkoholischen Gärmedium beweist, daß die Aktivität der Zymaseteilfermente in der Reihenfolge, in der die Teilfermente in Wirkung treten, ansteigt. Bei Vermeidung störender Azetaldehydeinflüsse gelang uns der Nachweis, daß die Carboxylase in der Hefezelle ein Mehrfaches von dem an Brenztraubensäure verarbeiten kann, was Glykolase und Oxydoredukase anzuliefern vermögen. Eine Vermehrung der Carboxylase in der intakten Hefezelle (und auch im Trockenhefepräparat) muß daher ohne Wirkung auf das Ausmaß der Gärung bleiben, da ja die die Zuckerspaltung einleitenden Fermente den Gärprozeß begrenzen. Ist dagegen das carboxylatische System soweit geschädigt, daß seine Wirksamkeit unter die Aktivität der den Zuckerabbau einleitenden Fermente herabgesunken ist, so wird die Carboxylase der die Gärung limitierende Faktor, und ein Carboxylasezusatz muß dann in einem Anstieg der CO_2-Produktion zur Auswirkung kommen. Nach einer Neubergschen Vorschrift, die auf der verschiedenen Temperaturstabilität von Zymase und Carboxylase beruhen, lassen sich leicht zymasefrei Carboxylasepräparate herstellen, die nach eigenen Untersuchungen im Co-Fermentgehalt gewöhnlichem Hefekochsaft gleichkommen. Diese Präparate vermögen weder Zucker noch Hexosediphosphat, wohl aber Pyruvinatlösungen anzugreifen. Fügt man nun einem Gäransatz von Blattbrei in Hexosediphosphat unter sonst gleichen Versuchsbedingungen das eine Mal Kochsaft, das andere Mal dagegen Carboxylasepräparat mit gleichem Gehalt an Co-Zymase, zu, so liefert der letztere Ansatz wesentlich höhere CO_2-Mengen. Daraus geht hervor, daß im Blattbrei nach Zufügung von Kochsaft die Carboxylase das die CO_2-Produktion begrenzende Ferment ist, was im lebenden Blatt nicht der Fall ist. Beim Zerreiben der Blätter wird also neben der Co-Zymase (Indifferenz

des Blattbreis gegen Zucker und Anhäufung von Methylglyoxal auf Hexosediphosphat) auch die Co-Carboxylase (Steigerung der Pyruvinatgärung des Blattbreis durch Kochsaftzusatz) und die Carboxylase selbst so weit geschädigt, daß ihre Aktivität unter diejenige der die Zuckerspaltung einleitenden Fermente herabsinkt.

Diese Inaktivierung des carboxylatischen Systems bewirkt nun eine Umsteuerung des Zuckerabbaus von der alkoholischen Gärung zur Milchsäuregärung hin. Diese letztere dokumentiert sich daher immer allgemeiner auch in pflanzlichen Organismen als der unter Ausschaltung der Carboxylase ablaufende Zuckerabbautyp. So wie Co-Zymasearmut des Gärpräparats den Zuckerabbau (vom Hexosediphosphat aus) nur bis zum Methylglyoxal führt (Neuberg), scheint bei ausfallender karboxylatischer Wirkung die gebildete Brenztraubensäure nicht dekarboxyliert, sondern zu Milchsäure reduziert zu werden. Wir möchten daher glauben, daß die Neubergsche Ketonaldehydmutase nur der Ausdruck einer unter Carboxylaseausschluß vor sich gehenden Oxydoreduktion des Methylglyoxals ist.

VII

Abhängigkeit des Pflanzenlebens von chemischen Faktoren der Umwelt

1. Chemisch-biologische und experimentelle Untersuchungen natürlicher Wässer und ihrer Organismengesellschaften [1])

Von Viktor Czurda

Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten von Organismen bei bewußt geleiteter Kultur haben gezeigt[2]), daß das Zellmaterial eines Organismus bei Unterbringung unter gleichbleibend günstigen Außenbedingungen ein hinsichtlich des Eintrittes und der Intensität der Zellvermehrung verschiedenes Verhalten zeigen kann. Es wurde festgestellt, daß diese Erscheinung durch Verschiebungen des inneren Zustandes hervorgerufen wird, die das Ergebnis der Milieueinflüsse der vorhergehenden Zeit darstellen. Da wir für das Gedeihen der Organismen am natürlichen Standort nur die Zellvermehrung als verläßliches Kriterium zur Verfügung haben, so leuchtet ein, daß der Eintritt günstiger Milieubeschaffenheit nicht immer mit einer entsprechenden Reaktion des Organismus in Form einer Aufnahme der Zellvermehrung oder einer Änderung ihrer Intensität beantwortet werden muß. Dieser für die Ökologie ganz allgemein bedeutungsvolle Umstand veranlaßte eine Hinzuziehung experimenteller Untersuchungen zu den rein registrierenden Standortsbeobachtungen.

Das Ziel der seit 1928 in regelmäßigen Zeitabständen erfolgten hydrobiologischen Untersuchungen in der Umgebung von Hirschberg i. B. liegt daher in zwei Richtungen: 1. Es soll festgestellt werden, welcher Art die Veränderungen der chemischen und biologischen Beschaffenheit bestimmter, ins Auge gefaßter Standorte sind und ob und inwieweit sich ein paralleles Einhergehen beider beobachten läßt.

---

[1]) Aus dem Pflanzenphysiologischen Institute der Deutschen Universität zu Prag.

[2]) Czurda, V., Wachstum und Stärkebildung einiger Konjugaten auf Kosten organisch gebundenen Kohlenstoffes. Planta, Bd. 2, 1926, S. 67.— Ders., Morphologie und Physiologie des Algenstärkekornes. Beihefte z. Bot. Zentralbl. I. Abt., Bd. 45, 1929, S. 97. — Ders., Experimentelle Untersuchungen über die Sexualitätsverhältnisse der Zygnemalen. Beihefte z. Bot. Zentralbl. I. Abt., Bd. 47, 1931, S. 15.

2. Es soll auf experimenteller Grundlage ermittelt werden, ob direkte kausale Zusammenhänge zwischen chemischer Milieubeschaffenheit und dem Auftreten bestimmter Organismengesellschaften bestehen.

Die aufgenommenen Untersuchungen erfuhren außer der Förderung seitens der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft noch weitere Unterstützungen. Eine solche erhielt ich vom Ackerbauministerium in Prag durch freundliche Vermittlung des Leiters der Untersuchungsstation für Fischzucht und Hydrobiologie in Hirschberg, Herrn Prof. V. Langhans, und von der Deutschen Gesellschaft der Wissenschaften und Künste für die tschechoslowakische Republik durch die liebenswürdige Vermittlung des Herrn Prof. Cori, des Vorstandes des zoologischen Instituts der deutschen Universität in Prag.

Die Standortsauswahl und die des Lebensraumes innerhalb dieser ist aus bestimmten Gründen so erfolgt, daß, soweit es bei den kleinen Standorten überhaupt möglich war, die Lebensräume des freien Wassers von ökologisch möglichst verschiedenen Gewässertypen der Beobachtung unterworfen wurden. Und zwar: das uferferne Wasser des Großteiches (1) und seine Zuflüsse, der aus dem SO kommende Heidebach (2), der ein Abfluß des anmoorigen Heideteiches ist, der in den Heidebach einmündende Jordanbach in seinem Verlauf auf Torf- (3) und Sanduntergrund (4), der aus dem S kommende Hirschberger Stadtbach (5), der ein Abfluß des eutrophen Tscheppelteiches ist, und der aus dem O kommende Hochmoorabfluß (6).

Von den außerhalb des genannten Systemes befindlichen Gewässern wurden ausgewählt: das Grabensystem des abflußlosen Beckens, genannt der Musikantenteich (7), zwei Moorgrabenabschnitte auf der Poselteichwiese (8, 9) und ein Zufluß des Poselteiches im O (10). Zum Vergleich wurden auch Grundwasseruntersuchungen gemacht: das Brunnenwasser der biologischen Station in Hirschberg (11), eine Quelle auf der Großteichwiese (12) und eine Quelle auf der Poselteichwiese (13). Vorübergehend wurde zum Vergleich das Oberflächenwasser noch anderer Standorte untersucht.

Es wurden, soweit möglich, regelmäßig nachstehende Bestimmungen gemacht: Leitfähigkeit, Wasserstoffionenkonzentration, Alkalinität, Ammon-, Nitrit- und Nitratstickstoff, organischer Stickstoff, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kalzium, Magnesium, Mangan, Kieselsäure, Chlor und Oxydierbarkeit. Sauerstoff- und Kohlensäurebestimmungen sind, da es sich um Oberflächenwasser gehandelt hat, nur zeitweilig geschehen. Aus Gründen der Ökonomie wurden die an der biologischen Station in Hirschberg von mir vorgenommenen

Bestimmungen mit kolorimetrischen und titrimetrischen Methoden ausgeführt. Gewisse Stoffe sind nur qualitativ bestimmt worden, da sie durchwegs in einer mit diesen Methoden nicht mehr oder nicht genau faßbaren Menge vorkommen. Die an Ort nicht durchführbaren gewichtsanalytischen Bestimmungen, die zur Entscheidung gewisser methodischer Fragen notwendig waren, wurden in entgegenkommender Weise an gleichzeitig geschöpften und nach Prag eingeschickten Wasserproben vom agrikulturchemischen Laboratorium des Landeskulturrates für Böhmen gemacht.

Die Beobachtung der biologischen Veränderungen hat sich vorwiegend auf die Feststellung der Vermehrung und des Verschwindens der vorherrschenden einzelligen Organismen beschränkt.

Wie schon an einer anderen Stelle auseinandergesetzt worden ist[1]), genügt es bei einer ökologischen Betrachtungsweise der Standortsverhältnisse keineswegs, bloß das Vorhandensein und die Menge eines Organismus oder Organismengemisches festzustellen. Es muß vielmehr die Vermehrungsintensität ermittelt werden. Denn nur diese unterliegt unmittelbar dem Einfluß der Milieubeschaffenheit. Es gibt in der Natur Lebensräume, die infolge ihrer besonderen chemischen und physikalischen Beschaffenheit irgendeine Alge als bestandbildenden Organismus nicht nur Monate, sondern auch jahrelang führen. Würde man, wie es vielfach geschehen ist, bloß nach der Menge urteilen, so müßte dieser Lebensraum als besonders günstig für das „Auftreten" dieser Alge angesehen werden. Wird aber die Vermehrungsintensität untersucht, so zeigt sich, daß sie verschwindend klein ist, daß also das Milieu gar nicht als günstig aufzufassen ist. Aus diesem Grunde wird auch der Ausdruck „Auftreten" vermieden, da er eine unbestimmte Ausdrucksweise darstellt.

Es ist für den einzelnen nicht möglich, das gesamte, kaleidoskopartig sich ständig ändernde Organismeninventar gleichmäßig zu überblicken. Daher wurden von den Einzellern vorwiegend die Algen berücksichtigt. Viele von ihnen zeigen infolge strenger autotropher Ernährungsweise eine engere Abhängigkeit von den untersuchten Stoffen als etwa die einzelligen Tiere mit ihrer animalischen Ernährungsweise. Die Abhängigkeit ist auch deshalb strenger, weil manche der untersuchten Stoffe gleichzeitig Nährstoffe sind. In einigen Fällen erfuhren unter den Algen Vertreter der Zygnemalen

---

[1]) V. Czurda, 1932, Paschers Süßwasserflora Heft 9, II. Aufl., S. 30.

besondere Beachtung. Sie treten zwar nicht auf allen Standorten als Leitformen auf. Aber sie sind mir in ihrem physiologischen Verhalten, besonders hinsichtlich der Eintrittsbedingungen für einen Entwicklungswechsel, aus eigenen Untersuchungen verhältnismäßig gut bekannt. Sie versprachen ein tieferes Verständnis der Lebensraumverhältnisse.

Aus dem vorliegenden Beobachtungsmaterial seien folgende Feststellungen hervorgehoben.

Das uferferne, kalkreiche und ständig alkalische Großteichwasser zeigt eine gewisse Gleichmäßigkeit der chemischen Verhältnisse. Der Einfluß der chemischen Qualität der Zuflüsse macht sich auch bei stärkeren Schwankungen nicht bemerkbar. Ebenso ist ein unmittelbarer Einfluß der künstlichen, mineralischen Düngung und der Fischfütterung mittels Lupine, die in manchen Uferabschnitten in bestimmten Zeitabständen erfolgt, in der Analyse nicht auffindbar, obgleich sich die günstige Wirkung beider im Fischertraganstieg erkennen läßt. Die Gleichmäßigkeit und die Unabhängigkeit von den Zuflüssen und der Düngung mag wohl mit der Flächenausdehnung und geringen Tiefe zusammenhängen. Unter diesen Umständen muß die Wirkung des Schlammuntergrundes die der Zuflüsse überdecken. Die Aufeinanderfolge der wichtigsten pflanzlichen Elemente des Planktons (Asterionella gracillima, Anabaena spiroides, Microcystis flos aquae, Ceratium hirundinella, Aphanizomenon flos aquae, Anabaena spiroides, Asterionella gracillima), das im Sommer nicht nur sehr dicht, sondern gleichzeitig auch artenreich ist, geht im groben betrachtet, jedes Jahr gleichartig vor sich. Im einzelnen untersucht ergeben sich aber hier, wie in ähnlichen Wässern anderenorts, jährliche Schwankungen der absoluten wie auch relativen Menge der einzelnen Elemente. Diese gehen nicht, wir erwartet werden könnte, mit den Verschiebungen der geringen, zeitweise gar nicht nachweisbaren Mengen an Phosphor, Stickstoff und Eisen einher. Die direkt nachweisbaren Mengen bewegen sich um ein Zehntel und ein Hundertstel von Milligrammen im Liter, so daß die außerordentlich hohe Produktion an pflanzlichem Plankton überrascht. Die ständige Nährstoffproduktion und der Verbrauch an diesen Stoffen sind anscheinend im Gleichgewicht, so daß nur die auf dem Wege vom Produktions- zum Verbrauchsort befindlichen kleinen Mengen analytisch erfaßt werden. Für Berechnungen der Planktonproduktion genügen diese Zahlen nicht, weil sie uns nicht über die gesamte Menge

an diesen Stoffen, die während eines Jahres entsteht, unterrichten. Eine einigermaßen deutliche Parallelität ist nur zwischen Planktonentwicklung und den Temperatur- und Lichtverhältnissen zu finden. Inwieweit die mit dem Temperaturanstieg und der Zunahme der CO_2-Assimilationstätigkeit einhergehende Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration, die im Sommer über den Grenzwert einer reinen $CaCO_3$-Lösung hinauszugehen pflegt, die Entwicklung der sommerlichen Planktonverhältnisse unterstützt, ist aus den Standortsbeobachtungen allein nicht herauszulesen.

Von den übrigen untersuchten Standorten unterliegen einige dem Einfluß der Felddüngungsart im Herbst und Frühjahr. Infolge mineralischer und Stallmistdüngung treten in ihnen auffallend große Mengen an Phosphor, Ammon- und Nitratstickstoff neben Kalk auf. Obwohl außerhalb der Düngungszeit die genannten Stoffe meist in einer kaum erfaßbaren Menge vorliegen, und obwohl die Licht- und Temperaturverhältnisse für die Entwicklung wenigstens einzelner Elemente der hier vorhandenen Organismengesellschaft noch ausreichend wären, unterbleibt ein sichtbarer Einfluß der auf das 10- bis 300-fache angestiegenen Nährstoffmengen. In manchen Fällen wirkt eine Stallmistdüngung des umliegenden Bodens auf eine völlige Vernichtung der Algen hin. Wie einige Versuche gezeigt haben, ist dabei nicht so sehr die Konzentrationserhöhung als vielmehr die Stoffwechseltätigkeit der zur Vorherrschaft gelangenden Bakterienvegetation maßgebend.

Wo der Einfluß der Felddüngung oder einer direkten Wasserdüngung fortfällt, dort ist mit den angewendeten chemischen Methoden keine periodisch wiederkehrende, hinreichend deutliche Zunahme einzelner lebenswichtiger chemischer Elemente zu finden. Eine solche könnte als Resultat bakterieller Zersetzung und Mineralisierung der abgestorbenen organischen Substanz während des Winters und des Frühjahres erwartet werden, da ein Teil der wichtigen Konsumenten dieser Stoffe, die Algen, während dieser Zeit zurücktreten. Es ist jedoch in keinem Fall eine deutliche Anhäufung der gesuchten Stoffe zu Beginn der Entwicklung der Algen angetroffen worden. Wo beim Durchsehen des Standortes eine weitgehende Zersetzung bemerkt worden ist, ohne daß sich dabei auch eine Zunahme mineralischer Stoffe gezeigt hätte, dort ist entweder der Abbau noch nicht soweit gediehen, daß er in der Zunahme einzelner der gesuchten Stoffe zum Ausdruck gelangt, oder aber er ist schon zu

weit fortgeschritten. Die Mineralisierungsprodukte sind inzwischen von anderen Organismen verbraucht worden, so daß eine Anhäufung ausbleiben mußte. Meist erfolgt aber der Abbau der organischen Substanz an solchen Standorten bis zur völligen Mineralisierung, die allein mit den angewendeten Methoden nachweisbar ist, erst ganz allmählich im Verlauf der „nächsten" Vegetationsperiode. Durch ständigen Verbrauch der entstehenden Menge dürfte auch hier eine Anhäufung unterbleiben, wie das oben beim Plankton kurz angedeutet worden ist.

Bei den kleinen Wasserräumen sind die biologischen Verhältnisse außerordentlich vielgestaltig. Einzelne Standorte führen das ganze Jahr hindurch nicht nur das gleiche Organismeninventar, sondern auch die gleichen bestandbildenden Arten. Es kommt weder zu einer nennenswerten Vermehrungsintensität noch auch zu einem Absterben infolge Überwucherung durch andere Organismen. So führte ein schwach saurer, anmooriger und eisenreicher Standort durch vier Jahre hindurch ununterbrochen fadenbildende Eisenbakterien, eine Spirogyraart und eine Heteroconte (Botrydiopsis). Die Veränderungen an den genannten Organismen beschränkten sich auf eine Zunahme und Abnahme der Färbung der beiden Algen und eine damit einhergehende kaum bemerkbare Steigerung und Abnahme der Vermehrungsintensität und auf eine stärkere Verschiebung der Zahl lebender Eisenbakterien bei der Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration. Die Gleichförmigkeit der biologischen Verhältnisse war überraschend, da wiederholt sehr starke Schwankungen des Phosphor-, Eisen-, Ammonstickstoff- und Nitratstickstoffgehaltes vorkamen. Erst eine Stallmistdüngung des Feldes und das Auftreten einer anderen Bakteriengesellschaft hat hier eine grundsätzliche Veränderung hervorgerufen. Bei den meisten anderen Standorten lösen oft wochenweise neue Leitformen die alten ab. Aber diese Eigentümlichkeit stellt sich nicht jedes Jahr gleichmäßig ein.

Diese Tatsachen und die experimentellen Feststellungen, von denen unten die Rede sein wird, legen die Vermutung nahe, daß die vielen, nicht bestimmten oder nicht bestimmbaren anorganischen und organischen Stoffe und die spezifischen Eigenschaften der Organismen die Entwicklungsfolge der letzteen mitbedingen. Unter den spezifischen Eigenschaften sind das Licht- und Temperaturbedürfnis und der jeweilige innere Zellzustand, von dem eingangs

die Rede war, zu verstehen. Daß die Algen ganz allgemein nur vom Frühjahr bis zum Herbst bestandbildend auftreten, dürfte in erster Linie durch die Licht- und Temperaturverhältnisse bedingt sein.

Mit den kurz angedeuteten Standortsbeobachtungen gingen gewisse experimentelle Untersuchungen im Laboratorium einher, die das stützen bzw. widerlegen sollten, was auf Grund der Standortsbeobachtungen verwertet wurde. Ein möglichst klares Herausarbeiten kausaler Zusammenhänge zwischen chemischer und biologischer Beschaffenheit des Lebensraumes interessiert nicht nur den reinen Süßwasserökologen, sondern auch den praktisch orientierten Hydrobiologen, um z. B. manche Teichdüngungsfragen zu lösen.

Experimentelle Untersuchungen wurden in vier Richtungen unternommen.

1. Es wurden Wasserproben der untersuchten Lebensräume mit den darin befindlichen Organismen in geeigneten Gefäßen untergebracht und die darin auftretende Gesellschaftsfolge mit der jenes Lebensraumteiles verglichen, der am Standort im Zusammenhang mit seiner Umgebung geblieben war.

Wasserproben stoffreicher Lebensräume mit deutlich gepufferter Wasserstoffionenkonzentration zeigen, auf diese Weise isoliert, eine oft schon nach zwölf Stunden bemerkbare Abweichung der Weiterentwicklung der Organismengesellschaft. Es treten in ihnen bald bestandbildende Formen auf, die am Standort selbst nie angetroffen worden sind. Stoffarme und gleichzeitg meist sauere Wässer können hingegen oft wochenlang die gleichen biologischen Verhältnisse zeigen wie am Standorte selbst. — Andere dieser Proben sind in bestimmter Weise gedüngt worden. Nur in wenigen Fällen konnte der ursprüngliche Organismenbestand annähernd erhalten werden.

2. Es wurden Beobachtungen darüber gesammelt, welche Vertreter des Organismengemisches ökologisch verschiedener Standorte gleiche oder ähnliche Milieuansprüche in chemischer und physikalischer Hinsicht zeigen. Zu diesem Zweck wurden die Gemische in die bereits bekannten, künstlichen Lösungen von streng gleichbleibender Zusammensetzung (räumlich getrennt und fixiert durch Agar) eingetragen und ihr weiteres Schicksal studiert.

Damit wurde auch an natürlichem Material gezeigt, daß sich das Zellengemisch eines Organismus nicht nur zahlenmäßig verschiebt,

sondern, daß sich schon lange vor dem Erscheinen morphologischer Anzeichen der innere, physiologische Zustand ändert und damit auf das weitere Schicksal auch bei zusagenden Außenbedingungen einen entscheidenden Einfluß gewinnt. Seine Wichtigkeit für Vermehrung und Entwicklungswechsel ist schon auf Grund der oben erwähnten experimentellen Untersuchungen betont worden. Da dieser Zustand weitgehend veränderlich ist, so kann er eine direkte Wirkung chemischer und physikalischer Verschiebungen völlig verdecken, weil eine Milieuwirkung nur an der Vermehrungsintensität erkaunt werden kann. Ein Versuch, aus statistischen Daten kausale Abhängigkeiten abzuleiten, erscheint daher als ein problematisches Unternehmen.

Mit dem Eintragen von Organismengemischen verschiedener Lebensräume in eine Lösung gleicher Zusammensetzung konnte ferner gezeigt werden, daß sich in ihnen Keime von Organismen finden, die charakteristische Elemente ökologisch anders beschaffener Standorte sind.

3. Viele Organismengemische konnten in den bekannten, künstlichen Lösungen auf Gleichheit ihrer Milieuansprüche nicht untersucht werden, da keine der bestandbildenden Formen in ihnen am Leben blieb. Es mußten andere Lösungen als Versuchs- bzw. Kulturlösungen verwendet werden. Die wesentlichsten Eigenschaften dieser wurden an Hand chemisch-analytisch gewonnener Daten der Lebensraumbeschaffenheit, soweit es durchführbar war, künstlich eingerichtet. Bei Berücksichtigung des physiologischen Zustandes des Versuchsobjektes ist es möglich geworden, u. a. Algen extrem sauerer und stoffarmer Moorwässer und solche aus stark alkalischem, stoffreichem Teichwasser selbst aus dem Zustand der momentanen Teilungsunfähigkeit heraus zu reger Zellvermehrung zu bringen und manche von ihnen dauernd rein zu züchten (Chlamydomonas curvicauda, Carteria sp., „Zygogonium ericetorum“, Chromulina ovalis, Ancistrodesmus falcatus, Botrydiopsis arhiza, Cryptomonas ovata, Tribonema sp., Anabaena spiroides neben zahlreichen Zygnemalen).

4. Es wurde das ernährungsphysiologische Verhalten einiger solcher Organismen in absoluter Reinkultur näher verfolgt.

Mit diesen kurzen Ausführungen ist gezeigt, daß selbst die ausführlichste chemische Analyse nicht imstande sein kann, allein Aufschluß über die Ursachen biologischer Veränderungen eines Lebens-

raumes zu geben. Dazu bedarf es der Kenntnis der physiologischen Eigentümlichkeiten wenigstens der wichtigsten Elemente der Organismengesellschaft. Da diese Kenntnisse einerseits nur an isolierten Organismen gewonnen werden können, und da andererseits eine Isolierung und ein erfolgreiches Experimentieren in vielen Fällen erst auf Grund der Kenntnis der chemischen Lebensraumbeschaffenheit möglich wird, so ist ersichtlich, daß nur durch Anwendung beider Methoden, der statistischen und der physiologisch experimentierenden, ein Eindringen in die verwickelten Verhältnisse natürlicher Standorte möglich erscheint. Es liegt erst der Anfang erfolgversprechender Untersuchungen vor. Nähere Aufschlüsse, vor allem Regeln, werden sich erst nach mehrjähriger Fortsetzung der Arbeit finden lassen, da die Unterschiede der Standorte stets durch das Zusammenwirken mehrerer Faktoren bedingt werden.

2. Untersuchungen über die Abhängigkeit des Lebens höherer Pflanzen von der Bodenazidität[1])

Von Walter Mevius (mit Unterstützung von Horst Engel)

A. Einleitung

Schon vor 150 Jahren machte man die Beobachtung, daß Kalkböden eine ganz andere Pflanzendecke besitzen als kalkarme Silikat- oder als Hochmoorböden. 50 Jahre später legte man sich die Frage vor, welche Einflüsse des Bodens es sind, die dieses unterschiedliche Verhalten der Flora bedingen. Aber erst den letzten 15 Jahren ist es vorbehalten geblieben, hierauf eine befriedigende Antwort zu geben. Man erkannte, daß der kohlensaure Kalk wegen seiner alkalischen Reaktion und wegen seiner Eigenschaft, saure Böden zu neutralisieren, einen ausschlaggebenden Einfluß auf die Bodenreaktion hat und daß diese es ist, die in vielen Fällen über das Auftreten bzw. Fehlen einer Pflanze entscheidet. Zahlreiche pflanzengeographische Beobachtungen, die in den verschiedensten Ländern gemacht worden sind, haben eindeutig gezeigt, daß in der freien Natur jede Pflanzenart nur in einem bestimmten Azidität-Intervall angetroffen wird. Bei einigen Arten ist dieses Intervall sehr groß, andere hingegen sind auf ein kleines Intervall begrenzt. Dieses kann natürlich eine ganz verschiedene Lage haben. Bei den echten Hochmoorpflanzen liegt es z. B. auf der stark sauren Seite. Bei kleineren Aziditätsgraden sterben diese Pflanzen entweder sofort ab oder werden doch wenigstens im Wachstum so stark gehemmt, daß sie der Konkurrenz nicht mehr gewachsen sind. Mit diesen pflanzengeographischen Beobachtungen stehen die Ergebnisse zahlreicher Laboratoriumsversuche, die ebenfalls in dem letzten Jahrzehnt angestellt worden sind, in bester Übereinstimmung. Wurden Wachstumsversuche bei fallender Azidität ausgeführt, so wurde eine für jede Art charakteristische Wachstumskurve erhalten. Auf Grund von Versuchen mit Wasserkulturen konnte Verfasser[2]) schon 1921 die Behauptung aufstellen, daß zwischen Kalk-

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute der Universität Münster i. W.

[2]) Mevius, W., Beiträge zur Physiologie „kalkfeindlicher" Gewächse. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 60, 1921, S. 147.

pflanzen und den Pflanzen kalkarmer Böden, im folgenden kurz Kalkflieher genannt, hinsichtlich ihres Bedarfes an Nährsalzen in qualitativer Beziehung kein prinzipieller Unterschied besteht. Nur das Intervall der Wasserstoffionenkonzentration, abgekürzt C_H, innerhalb dessen der einen bzw. der anderen Gruppe Wachstum möglich ist, ist ein verschiedenes. Bei den Kalkpflanzen ist es nach der alkalischen Seite, bei den Kalkfliehern nach der saueren Seite verschoben. Wie erklärt sich nun diese Abhängigkeit der höheren Pflanzen von der Bodenreaktion? Die Beantwortung dieser Frage hat nicht nur einen rein wissenschaftlichen Wert, sondern ist auch bei der Abhängigkeit unserer Kulturgewächse von der Azidität des Bodens für Land- und Forstwirtschaft von allergrößter Bedeutung. Heute wissen wir schon, daß die Abhängigkeit der Pflanzendecke von der Reaktion teils indirekter, teils direkter Natur ist. Zahlreiche physikalische und chemische Bodenfaktoren, wie Bodenstruktur, Löslichkeit von Eisen-, Mangan-, Zink-, Aluminium- und anderen Salzen, ändern sich mit steigender Azidität. Weiterhin ist das Leben der Mikroorganismen des Bodens in erheblichem Umfange von dessen Reaktion abhängig. Aber gerade diese im Erdboden lebenden Bakterien und Pilze sind für das Leben der höheren Pflanzen von ganz außergewöhnlicher Bedeutung. Einmal sorgen sie dafür, daß die am Aufbau organischen Materials beteiligten Elemente wieder in den Kreislauf der Stoffe zurückkehren und so von den höheren Pflanzen ausgenutzt werden können. Weiterhin rufen sie aber die Bodengare hervor und tragen auch dadurch erheblich zur Verbesserung des Fruchtbarkeitszustandes des Bodens bei. Die Abhängigkeit von der Bodenreaktion konnte in ganz besonders ausgeprägtem Maße bei den Mikroorganismen nachgewiesen werden, die für den Stickstoffhaushalt des Bodens — Bindung des Luftstickstoffes, Eiweißzersetzung, Nitrifikation, Denitrifikation — von ausschlaggebender Bedeutung sind. Gleiche Abhängigkeit lassen aber auch zahlreiche Bakterien und Pilze erkennen, die als Erreger von Krankheiten höherer Pflanzen in Betracht kommen, z. B. der Erreger des Kartoffelschorfes und der Herzkrankheit der Runkel- und Zuckerrübe.

Kulturversuche mit Nährlösungen bei steigenden p_H-Werten, in denen alle Nährsalze in ausreichendem Maße vorhanden waren, alle ungünstigen Bodenfaktoren ferngehalten wurden und die klimatischen Bedingungen optimal waren, hatten aber, wie schon erwähnt, eindeutig gezeigt, daß jeder Pflanze nur in einem für sie charakteristischen

p_H-Intervall Wachstum möglich ist. Außerhalb desselben sterben die Wurzeln mehr oder weniger schnell ab. Aus dieser Tatsache und noch zahlreichen anderen mußte man den Schluß ziehen, daß es auch direkte Beziehungen zwischen der Reaktion des Bodens und dem Leben der Pflanzen geben muß. Die im nachstehenden aufgeführten Untersuchungen hatten es sich zur Aufgabe gemacht, besonders diese direkten Beziehungen aufzuhellen.

B. Die Wirkung von destilliertem Wasser und von Eisen-, Zink-, Aluminium- und Borsalzen auf die Wurzeln höherer Pflanzen[1])

Von agrikulturchemischer Seite wurde immer wieder behauptet, daß fast nur die indirekten Beziehungen zwischen Pflanze und Bodenreaktion für die Zusammensetzung der Pflanzendecke von Bedeutung sind. Nach ihrer Ansicht sollen deshalb zahlreiche Kulturpflanzen auf stark saueren Mineralböden zugrunde gehen oder doch wenigstens ein kümmerliches Wachstum zeigen, weil durch die starke Bodenazidität Schwermetallionen in für die Pflanzen giftigen Mengen in Lösung gebracht werden. Besondere Bedeutung wurde in dieser Hinsicht dem Aluminiumion zugesprochen. Eindeutig wurde gezeigt, daß die Gerste im Gegensatz zum Roggen sehr empfindlich gegen dieses Element ist. Bei manchen saueren Böden sollen es Eisen- oder Mangan- oder Zinkionen sein, die auf die Wurzeln der Pflanzen eine mehr oder weniger große Giftwirkung ausüben. Alle diese Stoffe wurden vom Verfasser hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Kalkpflanze Esparsette und die Seestrandkiefer, einen bekannten Kalkflieher, geprüft. Vorher mußte aber die Frage untersucht werden, welche Wirkung destilliertes Wasser allein auf die Wurzeln dieser Pflanzen ausübt. Destilliertes Wasser, welches aus einem Metallapparat stammt, ist fast immer giftig, weil es Spuren von Schwermetallen, die aus der Wand des Apparates stammen, führt. Solches Wasser kann in den meisten Fällen durch Zusatz von Phosphaten oder Karbonaten entgiftet werden. Sehr viel umstrittener ist die Frage, ob Wasser, welches niemals mit Schwermetallen in Berührung gekommen ist, ebenfalls eine Giftwirkung ausübt. Von einigen Forschern wird dieses verneint. Andere hingegen haben eine Schädigung der Zellen fest-

[1]) Mevius, W., Weitere Beiträge zum Problem des Wurzelwachstums. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 69, 1928, S. 119.

gestellt. Für diese Giftwirkung werden folgende Erklärungen gegeben: 1. Das Wasser übt eine auslaugende Wirkung aus und zerstört vor allen Dingen die plasmatischen Grenzschichten, indem es daraus einen Teil der Lipoide herauslöst. 2. Lösungen, die einen im Verhältnis zum Zellsaft sehr geringen osmotischen Wert haben, sollen Zellschädigungen hervorbringen. 3. Aus den Wurzelzellen sollen unter dem Einfluß des destillierten Wassers Stoffe austreten, die für die Wurzeln giftig sind. Einige Forscher nehmen weiter an, daß eine von diesen giftigen Substanzen die Atmungskohlensäure ist. Diese soll nach der Ansicht einiger dadurch, daß sie die C_H heraufsetzt, stark giftig wirken. Andere hingegen behaupten, es läge hier keine Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration vor, sondern eine spezifische der Kohlensäure. Bei eigenen Versuchen mit dreifach destilliertem Wasser — das dritte Destillat stammte aus einer Bergkristallapparatur — wurden die Wurzeln aller untersuchten Pflanzen geschädigt. Besonders empfindlich waren die Esparsettewurzeln. Die der Seestrandkiefer waren sehr viel widerstandsfähiger. Kalziumsalze riefen schon in ganz geringen Mengen antitoxische Wirkungen hervor. Bei der Kiefer bewirkte $CaCl_2$ in der Konzentration 1:10000000 normales Wurzelwachstum. Beim verwandten Strontium wurde wider alles Erwarten keine Schutzwirkung, wohl aber eine deutliche Giftwirkung beobachtet. Allerdings kam auch ein Präparat zur Anwendung, das vollständig von Ca-Spuren frei war. Auch Kaliumsalze konnten destilliertes Wasser entgiften, sie mußten aber in stärkeren Konzentrationen als die Ca-Salze gegeben werden. Ein Gemisch von Mg- und K-Salzen wirkte ebenfalls antitoxisch. Auf Grund der ausgeführten Versuche muß die Ansicht, daß die Wurzeln giftige Substanzen abgeben, abgelehnt werden; denn häufiger Wasserwechsel steigerte sogar die Giftwirkung. Unhaltbar ist auch die „osmotische" Theorie, denn da schon 0,1 mg Ca-Jonen einen Liter dest. Wasser entgiftet, so kann nicht das Verhältnis von osmotischem Wert des Zellsaftes zu osmotischem Wert der Außenlösung diese ausschlaggebende Rolle spielen. Ferner ist auch die Annahme abzulehnen, daß die Wurzeln wegen des zum Aufbau ihrer Zellbestandteile fehlenden Kalziums zugrunde gehen müssen. Es muß vielmehr der Schluß gezogen werden, daß die Giftwirkung des dest. Wassers auf einer Jonenwirkung beruht; denn nur dann kann die antitoxische Wirkung so geringer Ca-Mengen erklärt werden. Sehr wahrscheinlich sind es die H- bzw. OH-Jonen des dest. Wassers, die bei Abwesenheit anderer

Jonen einen so schädlichen Einfluß auf die Wurzelzellen ausüben. Wegen dieser Beobachtungen wurden allen Lösungen der zu untersuchenden Schwermetallsalze bestimmte $CaCl_2$-Mengen zugesetzt.

Aluminium schädigt die Esparsette schon in einer Konzentration 1:10000000. Die zehnfache Menge ist tödlich. Sehr viel weniger empfindlich ist die säureliebende Seestrandkiefer. Selbst die Konzentration 1:250000 bringt diese Pflanze nicht zum Absterben. Es bildet allerdings die Wurzelspitze eine aus Korkzellen bestehende Schutzhaube, eine sog. Metakutis. Noch etwas giftiger als das Aluminium ist das Zink. Aber auch hier wurde die sehr viel größere Empfindlichkeit der Esparsette beobachtet. Eisen war für diese Pflanze fast ebenso giftig wie das Zink. In der Konzentration 1:2000000 starben die Wurzelspitzen schon nach 4—5 Tagen ab. Auch diesem Element gegenüber konnte wieder die sehr viel größere Widerstandsfähigkeit der Kiefer beobachtet werden. Die von Roberg an Pilzen gemachte Beobachtung, daß sich Eisen und Zink entgiften können, allerdings nur bis zu einem bestimmten Grade, gilt auch für die Wurzeln höherer Pflanzen.

Als die im vorstehenden aufgeführten Versuche angestellt wurden, ergab sich auch die Notwendigkeit, das Verhalten der Versuchspflanzen dem Bor gegenüber zu prüfen. Untersuchungen englischer und amerikanischer Forscher haben eindeutig gezeigt, daß dieses Element für eine Reihe von Pflanzen, und zwar für das Wachstum von Sproß und Wurzel ein lebenswichtiger Stoff ist. Für die Esparsette konnte das bestätigt werden. Dagegen ist die sonst so widerstandsfähige Seestrandkiefer außerordentlich empfindlich gegenüber diesem Element. Schon bei der Konzentration 1:20000000 kommt es zu einer Chlorophyllzerstörung in den Nadeln.

C. Der Einfluß der Nährsalze auf die Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration und umgekehrt[1])

Verf. konnte an Torfmoosen zeigen, daß das p_H-Intervall, innerhalb dessen die einzelnen Sphagnen beim Laboratoriumsversuch am Leben bleiben, verschiebbar ist und von der Zusammensetzung der

[1]) Mevius, W., Wasserstoffionenkonzentration und Permeabilität bei „kalkfeindlichen" Gewächsen. Z. f. Bot., Bd. 16, 1924, S. 641. — Ders., Kalzium-Jon und Wurzelwachstum. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 66, 1927, S. 183.

Nährlösung und vor allen Dingen von ihrer Gesamtkonzentration abhängig ist. Steigende Konzentration der Nährlösung und fallende C_H haben beide Schädigung der Torfmoose im Gefolge. Wird anderseits die Menge der Jonen in der Lösung herabgesetzt, so kann Wachstum in Lösungen mit größerem p_H-Wert erfolgen. In einem relativ sehr kleinen Aziditätsbezirk auf der stark saueren Seite besteht eine große Unabhängigkeit von der Konzentration der Nährlösung. Relativ große Salzmengen werden dann von den sonst so empfindlichen Torfmoosen vertragen. Ähnliche Beobachtungen wurden auch an höheren Pflanzen gemacht. Bei ihnen zeigte sich weiterhin, daß die verschiedenen Pflanzen ein verschieden starkes Eisenaufschließungsvermögen besitzen. Dieses muß, wie schon ihr Vorkommen zeigt, am stärksten bei den Pflanzen der Kalkböden sein; denn obwohl bei neutral-alkalischer Reaktion die Löslichkeit der Eisensalze sehr stark herabgesetzt ist, besonders wenn der Boden arm an organischer Substanz ist, sind doch diese Pflanzen imstande, auf Kalkböden normal grüne Blätter auszubilden. Wie eigene Versuche und Beobachtungen in der freien Natur aber zeigten, besitzen im Gegensatz zu den Kalkpflanzen die Kieselpflanzen bei neutraler-alkalischer Reaktion ein sehr schlechtes Eisenaufschließungsvermögen. Ihre Blätter werden mehr oder weniger gelb. Man nennt diese Erscheinung Chlorose. Sie beruht darauf, daß die Pflanzen wegen Eisenmangel kein Chlorophyll ausbilden können. Dieses Verhalten auf Kalkböden ist mit ein Grund, warum Kieselpflanzen diese Böden meiden. Sie sind wegen stark gehemmter Photosynthese der Konkurrenz der Kalkpflanzen nicht mehr gewachsen.

Aus allen aufgeführten Beobachtungen wurde vom Verf. 1924 der Schluß gezogen, daß die C_H des Nährmediums für die Permeabilität und Nährstoffaufnahme der Pflanzen von größter Bedeutung ist, eine Annahme, die in den letzten Jahren von zahlreichen Forschern auf Grund ganz anderer Versuche bestätigt werden konnte. Ferner wurde aber noch gefolgert, daß man die Bodenazidität, abgesehen von dem Bodenfaktor Wasser, nicht als den für die Zusammensetzung der Pflanzendecke allein maßgebenden Faktor betrachten darf, wie das leider in zahlreichen neueren Arbeiten geschehen ist. Die Wirkung der Bodenazidität ist von derjenigen der in der Bodenlösung befindlichen Salze abhängig und umgekehrt.

Diese Überlegungen führten 1927 den Verf. dazu, die Wirkung des Kalziums auf die Wurzeln höherer Pflanzen in Abhängigkeit vom

p_H-Wert des Nährmediums zu untersuchen. Dieses Problem ist deshalb von ganz besonderer Bedeutung, weil unsere durch Düngung mit Ammoniumsalzen stark versauerten Kulturböden nicht allein eine relativ große C_H besitzen, sondern auch durch Ionenaustausch stark entbast und dadurch sehr kalziumarm geworden sind. Da aber trotzdem zahlreiche Pflanzen auf diesen saueren Böden normales Wachstum zeigen, während andere unterdrückt werden, so mußte erwartet werden, daß der Ca-Bedarf für die verschiedenen Pflanzen ein verschiedener ist. Weiter sollte aber auch geprüft werden, ob sich nicht auch für eine bestimmte Pflanze eine Abhängigkeit zwischen p_H-Wert und Ca-Bedarf finden läßt. Hinsichtlich ihrer Kalziumbedürftigkeit lassen sich die untersuchten Pflanzen in drei Gruppen einteilen. Die Seestrandkiefer stellte die geringsten Ansprüche. Bei p_H 3,3—4,3 hat der Bedarf ein Minimum. Nach beiden Seiten steigt er dann ständig an. Der zweiten Gruppe gehört der Mais an. Sein Bedarf an Ca ist, besonders auf der neutral-alkalischen Seite, erheblich größer. Aber auf der saueren Seite besitzt diese Pflanze ebenfalls hinsichtlich ihrer Ca-Bedürftigkeit ein Minimum. Die größten Ansprüche an dieses Element stellen bei allen p_H-Werten folgende Schmetterlingsblütler: die weiße, gelbe und blaue Lupine und die Esparsette. Aber auch bei diesen Pflanzen war der Ca-Bedarf von der Reaktion der Nährlösung abhängig. Auf Grund seiner Untersuchungen kommt Verf. zu dem Schluß, daß die Stabilität der normalen Permeabilität der Wurzelzellen der untersuchten Pflanzen verschieden groß ist und in erheblichem Maße von der Reaktion abhängig ist. Die wichtigste Aufgabe des Kalziums besteht darin, diesen mehr oder weniger labilen Permeabilitätszustand in einen von der Zusammensetzung der Nährlösung, Temperatur usw. unabhängigen, stabilen Zustand zu überführen. Sauere Böden werden, wie auch Düngungsversuche mit neutralen Ca-Salzen gezeigt haben, von manchen Gewächsen nicht so sehr wegen ihrer großen Wasserstoffionenkonzentration als vielmehr wegen ihres geringen Gehaltes an Ca-Ionen gemieden. So unerwünscht für manchen Kulturboden eine hohe Azidität ist, so ist sie es doch auch wieder, die den säureliebenden Pflanzen auf an Kalzium stark verarmten Böden noch normales Wachstum gestattet, da bei diesen Aziditätsgraden solche Pflanzen mit einem Minimum an Kalzium auskommen können.

Die Untersuchungen brachten aber auch noch weiteres Material für die Richtigkeit der Annahme, daß die Nährstoffaufnahme von der

C_H abhängig ist. Alkalisalze rufen in nicht physiologisch ausgeglichenen Lösungen Sistierung des Wurzelwachstums hervor. Teilweise sterben sogar die Wurzeln ab. In noch stärkerem Maße gilt dieses für die Magnesiumsalze. Die Versuche des Verf. zeigten nun, daß die schädliche Wirkung in ganz erheblichem Maße von der Reaktion der Außenlösung abhängig ist. Bei p_H-Werten von 3,3—4,3 werden KCl und $MgSO_4$ von den Wurzeln der Seestrandkiefer ohne die geringsten Schäden ertragen. Beim Mais erfolgt die geringste Schädigung bei p_H 4,4—4,5. Dagegen sind bei p_H 7,0 und mehr diese Salze immer giftig.

D. Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration[1])

Bei der großen Unsicherheit, die immer einer Düngung mit Ammoniumsalzen anhängt, mußte es von praktischer und rein wissenschaftlicher Bedeutung sein, die Abhängigkeit der Wirkung dieser Salze von der C_H zu untersuchen. Dabei war es aber erforderlich, gleiche Untersuchungen auch mit Salzen der Salpetersäure anzustellen; denn nur so durfte erwartet werden, die für die Praxis wichtige Frage nach dem gegenseitigen Wert der beiden N-Quellen beantworten zu können. Als Versuchspflanze diente in erster Linie der Mais.

Nach der bisherigen Ansicht soll die häufig beobachtete ungünstige Wirkung der Ammoniumsalze allein darauf beruhen, daß Nährlösungen, die NH_4-Salze als N-Quelle führen, unter dem Einfluß wachsender Pflanzen immersauerer werden, und die neu auftretenden H-Jonen sollen es sein, welche die beobachtete ungünstige Wirkung hervorbringen. Dieser Azititätsanstieg soll nach agrikulturchemischer Ansicht darauf beruhen, daß, wenn z. B. Salmiak als N-Quelle dargeboten wird, das Ammoniak rasch aufgenommen und verarbeitet wird. „Die Salzsäure bleibt übrig, da für sie als solche keine Funktion in der Pflanze und keine Möglichkeit der Verarbeitung

[1]) Mevius, W., Die Wirkung der NH_4-Salze in ihrer Abhängigkeit von der C_H. Planta Bd. 6, 1928, S. 379. — Mevius, W. und Engel H., Die Wirkung usw. II. Planta Bd. 9, 1929, S. 1. — Ribbert, A., Beiträge zur Frage nach der Wirkung der NH_4-Salze in ihrer Abhängigkeit von der C_H. Planta Bd. 12, 1931, S. 603. — Engel, H., Beiträge zur Kenntnis des Stickstoffumsatzes grüner Pflanzen. Planta Bd. 7, 1929, S. 133.

existiert, und wird durch die Wurzeln exosmotisch ausgeschieden.“ Solche Salze, die unter dem Einfluß wachsender Pflanzen die Nährlösung ansäuern, heißen physiologisch-sauere Salze. Durch Kalkdüngung soll es möglich sein, die ausgeschiedene Säure zu neutralisieren und dadurch die NH_4-Salze zu einer sehr günstigen N-Quelle für höhere Pflanzen zu machen.

Die Versuche des Verf. zeigten, daß im Gegensatz zu den Nitraten die Ammoniumsalze starker Säuren in ganz außergewöhnlichem Maße in ihrer Wirksamkeit von der C_H abhängen. Bei neutraler — alkalischer Reaktion rufen sie eine ausgesprochene Giftwirkung hervor, die sich in erster Linie an den Wurzeln und indirekt, durch eine gestörte Eisenaufnahme, auch an den Blättern bemerkbar macht. Der schädliche Einfluß nimmt zu mit steigender Salzkonzentration und fallender Azidität. Bei stark sauerer Reaktion werden relativ große Ammoniumsalzmengen ohne die geringsten Schäden ertragen. Ungünstige Außenfaktoren wie Lichtmangel, Eisenmangel usw. steigern die Giftwirkung der NH_4-Salze. Die Nitrate lassen im Gegensatz zu den Ammoniumsalzen keine Abhängigkeit in ihrer Wirksamkeit von der Reaktion erkennen. Sie sind abgesehen von dem Intervall p_H 5,0—6,0 den NH_4-Salzen immer überlegen. Bei diesen Aziditätsgraden sind beide N-Quellen gleichwertig. Die physiologische Azidität der NH_4-Salze konnte immer bestätigt werden. Hierbei zeigte es sich aber, daß es für das Wurzelwachstum des Maises keine feststehende untere p_H-Grenze gibt. Erfolgt nämlich im Nährmedium ein langsamer Aziditäts-Anstieg, so können sich die Wurzelteile, die in der Lösung den p_H-Abfall mitgemacht haben, an Säuregrade anpassen, die sonst die Wurzeln in wenigen Stunden abtöten würden. Diese „Gewöhnung“ gilt nicht für nachträglich über der Nährlösung in der Luft angelegte Adventivwurzeln. Auf Grund dieser Tatsache wird auch die von Forstwirten gemachte Beobachtung verständlich, daß Koniferensämlinge auf manchen saueren Waldböden zugrunde gehen, obwohl der gleiche Boden ältere Pflanzen trägt, die ganz normales Wachstum zeigen. Letztere sind allerdings angepflanzt worden, als der Boden noch nicht so sauer war. Sie haben aber während des Wachstums den langsam erfolgenden Aziditätsanstieg des Bodens mitgemacht, und dadurch sind ihre Wurzeln stärkeren Aziditätsgraden angepaßt worden.

Weiterhin zeigten die Versuche des Verf.s, daß alle Schäden, die in Gegenwart der NH_4-Salze an den Maispflanzen auftreten, erst

dann der physiologischen Azidität zugeschrieben werden dürfen, wenn der p_H-Wert unter 3,6 gesunken ist. Bei höheren p_H-Werten sind diese allein auf den basischen Anteil dieser Salze zurückzuführen.

Auf Grund seiner Beobachtungen gibt Verf. folgende Erklärung von der Abhängigkeit der Wirkung der NH_4-Salze von der Bodenreaktion. Bekanntlich sind alle NH_4-Salze mehr oder weniger stark hydrolytisch gespalten, d. h. die NH_4-Jonen bilden mit den OH-Jonen des Wassers NH_4OH-Moleküle, die teilweise in NH_3 und H_2O zerfallen, gleichzeitig wird die Lösung angesäuert. Bestimmend für die physiologische Wirkung einer NH_4-Salzlösung ist der Grad ihrer hydrolytischen Spaltung und damit die zu ihr gehörige NH_3-Tension. Je größer diese ist, in um so größerem Maße dringt Ammoniak, für das im Gegensatz zu den NH_4-Jonen der Protoplasmaschlauch sehr leicht durchlässig ist, das aber auf der anderen Seite schon in relativ kleinen Dosen ein starkes Zellgift ist, in die Zellen ein. Die NH_3-Tension richtet sich nun aber bei gleicher Salzkonzentration nach dem p_H-Wert der Lösung. Sie steigt mit fallender Azidität. Aus diesem Grunde werden in saueren Lösungen sehr viel stärkere Ammoniumsalzkonzentrationen vertragen als bei neutraler oder sogar alkalischer Reaktion. Da nun aber Bildung von NH_4OH-Molekülen zu einem Aziditätsanstieg führt, so muß andererseits in einer Lösung, aus der durch die Wurzeln ständig NH_3- bzw. NH_4OH-Moleküle entfernt werden, dem Ammoniakverbrauch eine ständige Zunahme der C_H parallel gehen. Es stammen also die H-Jonen aus dem Wasser und werden nicht erst in der Pflanze gebildet, um dann nach außen abgegeben zu werden.

Ribbert hatte es sich zur Aufgabe gemacht, diese Überlegungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen, indem er direkt das Eindringen von Ammoniak aus NH_4-Salzlösungen bei den verschiedensten p_H-Werten verfolgte. Es wurden von ihm drei verschiedene Methoden benutzt:

1. Die Zellen von Spirogyra führen in ihrem Zellsaft Gerbstoffe. Diese werden durch Zusatz von Ammoniak ausgefällt. Es wurde nun der Grad der Ausfällung als Maßstab für die Menge eindringenden Ammoniaks gewählt.
2. Manche Pflanzen führen in ihrem Zellsaft einen natürlichen Indikator, Anthocyan. Der Farbumschlag, der erfolgt, wenn sich die Reaktion des Zellsaftes verändert, wurde als Kriterium für eindringendes Ammoniak benutzt.

3. Mit Hilfe des Mikromanipulators wurden künstliche Indikatoren in den farblosen Zellsaft injiziert und dessen Farbumschlag benutzt, um das Eindringen des Ammoniaks zu verfolgen.

Alle drei Methoden führten zu denselben Ergebnissen. Die von Mevius ausgesprochenen Behauptungen wurden in vollem Umfang bestätigt. Weiterhin konnte Ribbert auch noch zeigen, daß die zuerst von Overton gemachte Beobachtung, daß sich die Zellen starken Basen — KOH, NaOH — gegenüber ganz anders verhalten als gegenüber dem Ammoniak, trotz neuer anders lautender Angaben, den Tatsachen entspricht. Es zeigte sich, daß OH-Jonen so lange nicht in den Zellsaftraum eindringen, als die Zelle nicht irreversibel geschädigt ist. Ließ sich auf Grund eines Indikatorumschlages das Eindringen von OH-Jonen nachweisen, so war entweder schon der Protoplast abgestorben oder doch wenigstens ein großer Teil des Cytoplasmas zerstört.

Leicht dagegen dringt das NH_3- bzw. NH_4OH-Molekül ein. Dieser Vorgang ist reversibel. Das eingedrungene Ammoniak läßt sich auswaschen und, falls es nicht zu lange in den Zellen gewesen ist, erholen sich diese auch wieder vollständig.

Gemeinsam mit Engel untersuchte Verf. aber auch noch den N-Haushalt mit Ammonium- bzw. Salpetersäuresalzen ernährter Maispflanzen. Es wurde dafür von Engel eine Mikromethode ausgearbeitet, die es gestattet, das präformierte Ammoniak, die Amide und den Reststickstoff in ein und derselben Lösung zu bestimmen. Um nun den N-Haushalt von Pflanzen, denen eine Stickstoffquelle zur Verfügung stand, klarer übersehen zu können, untersuchte Engel allein zunächst den N-Haushalt von Pflanzen, die sich in Licht im vollständigen Stickstoffhunger befanden. Die Werte, die für die verschiedenen N-Fraktionen erhalten wurden, zeigten, daß sich diese Pflanzen auf Kosten des gebundenen Stickstoffs ihrer älteren Organe ernährten. Eiweißkörper wurden bis zu den Aminosäuren abgebaut, und diese wanderten zu den jungen wachsenden Teilen der Pflanze ab. Hier erst wurden die Aminosäuren als Bausteine zur Bildung von Eiweißkörpern verbraucht. Niemals wurde eine Abspaltung von NH_2-Gruppen der Aminosäuren in den vom Eiweißabbau betroffenen Blättern beobachtet. Während des N-Hungers nahmen die Wurzeln stark an Länge zu. Ihre wachsenden Teile deckten ihren N-Bedarf sicher aus den älteren Wurzelpartien, sehr wahrscheinlich

wurden aber auch Aminosäuren aus den vergilbenden Blättern zugeleitet.

Ein ganz anderes Bild erhielten Verf. und Engel, wenn die Maispflanzen mit Stickstoffsalzen gefüttert wurden. Werden NH_4-Salze als N-Quellen gegeben, so verschwindet der basische Anteil dieser Salze um so schneller aus der Lösung, je größer der p_H-Wert des Nährmediums ist. Diese Abhängigkeit der NH_4-N-Aufnahme von der Reaktion spiegelt sich natürlich auch stark im N-Haushalt der Versuchspflanzen wieder. Besonders deutlich zeigen das die Wurzeln. Bei gleicher NH_4-Salzkonzentration ist der Gehalt an präformiertem Ammoniak und Asparagin — dieses stellt bekanntlich eine Entgiftungsstufe des Ammoniaks dar, — um so größer, je kleiner die C_H der Nährlösung ist. Im Sommer ist das Verhältnis von Asparagin-N zu Ammon-N erheblich größer als im Winter. In der dunkelen Jahreszeit findet wegen der ungünstigen Lichtverhältnisse und der dadurch stark herabgesetzten Kohlenstoffassimilation eine besonders starke Zunahme des NH_4-N statt, während im Sommer mehr gebundener Kohlenstoff zur Verfügung steht, um das eingedrungene Ammoniak in Form von Asparagin zu entgiften. Sind die Bedingungen für eine kräftige Photosynthese besonders günstig oder stehen der Pflanze große Kohlenhydratreserven zur Verfügung, so geht der gesteigerten NH_4-Aufnahme ein deutlicher Anstieg im Gehalt der Wurzeln, besonders aber der Blätter, an Eiweißstickstoff parallel. Die starken Wurzelschäden, die in Ammoniumsalzlösungen bei neutraler—alkalischer Reaktion auftreten, sind sicher die Folge einer Ammoniakvergiftung. Das zeigt eindeutig der große Gehalt der Wurzeln an NH_4- und Asparagin-N. Werden hingegen gleiche NH_4-Salzkonzentrationen bei stark saurer Reaktion dargeboten, so zeigt der geringe Gehalt der Wurzeln an Gesamt-N, an NH_4-N und an Asparagin, daß hier nur eine sehr schwache Stickstoffaufnahme erfolgt sein kann. Einen sehr guten Maßstab für die N-Aufnahme gibt auch das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N. Ist es relativ klein, das war bei neutraler—alkalischer Reaktion der Fall, so sind sicher die Stoffwechselvorgänge in der Pflanze in pathologische Bahnen gedrängt. Die Befunde, die uns unsere Stickstoffbestimmungen lieferten, stehen in vollster Übereinstimmung mit den im vorstehenden ausgeführten Überlegungen des Verf. und den Beobachtungen von Ribbert.

Ein ganz anderes Verhalten zeigen die Nitratpflanzen. Hier läßt der N-Haushalt keine Abhängigkeit von der Reaktion erkennen. Bei

allen p_H-Werten wurden ungefähr dieselben Werte für die einzelnen N-Fraktionen gefunden. Dem Fehlen jeder pathologischen Veränderung an Sproß und Wurzel geht ein niedriger Gehalt an Gesamt-N, NH_4-N und Asparagin parallel, und das Verhältnis von Eiweiß N zu löslichem N hatte den normalen, hohen Wert.

Auf Grund der Analysen kann über die Aufnahme und Weiterverarbeitung eingedrungenen Ammoniaks durch die höheren Pflanzen folgende Erklärung gegeben werden. Werden anorganische NH_4-Salze den Wurzeln dargeboten, so dringt das durch hydrolytische Spaltung gebildete Ammoniak in die resorbierenden Wurzelzellen ein und zwar bei gleicher Temperatur und gleicher NH_4-Salzmenge in um so stärkerem Maße, je größer der p_H-Wert der Außenlösung ist. Dieses Ammoniak wird dort zunächst durch organische Säuren neutralisiert. Steht genügend gebundener Kohlenstoff zur Weiterverarbeitung zur Verfügung, so findet eine Bildung von Aminosäuren und Amiden statt. Ist die C-Assimilation normal, so wird das Verhältnis von gebundenem Kohlenstoff zu gebundenem Stickstoff immer günstiger für die Pflanze, je mehr wir uns im Pflanzenkörper von den resorbierenden Zonen entfernen, da nach dem Gegenstromprinzip der Strom der aufsteigenden ersten N-Assimilate auf den absteigenden Strom der C-Assimilate trifft.

Auf Grund der ausgeführten Versuche kann jetzt folgendes Werturteil über eine Düngung mit NH_4-Salzen einerseits und einer solchen mit Nitraten andererseits abgegeben werden. Nitrate sind in ihrer Wirksamkeit in einem weiten p_H-Intervall von der Reaktion des Bodens unabhängig. Eingedrungene Nitrate sind für die Zellen ungiftig und können von ihnen gespeichert werden. Dadurch ist die Pflanze instand gesetzt, diese N-Verbindungen dann erst weiter zu verarbeiten, wenn sie ihrer bedarf. Die Ammoniumsalze hingegen sind in ihrer Wirksamkeit im weitesten Maße von der Reaktion des Nährmediums abhängig. Bei p_H-Werten von 7 und mehr kann die NH_4-Aufnahme so stark sein, daß die Wurzeln absterben. Da Ammoniak ein starkes Zellgift ist, so kann es nicht in den Zellen gespeichert werden, sondern muß sofort entgiftet werden. Das geschieht durch Salzbildung mit organischen Säuren, durch Bildung von Aminosäuren und durch Amidbildung. Aber nur wenn genügend organisch gebundener Kohlenstoff zur Verfügung steht, kann die Pflanze diese Entgiftungsprodukte bilden, andernfalls geht sie an Ammoniakvergiftung zugrunde. Wegen dieser starken Abhängigkeit von der

Photosynthese ist die Wirkung einer Ammoniakdüngung sehr viel mehr von den klimatischen Außenfaktoren abhängig als eine Salpeterdüngung. Die Nitrate sind nicht physiologisch—sauer, daher kann auch der Boden nicht durch Ansäuerung hinsichtlich seines Fruchtbarkeitszustandes ungünstig beeinflußt werden, wie das bei einer Düngung mit den physiologisch saueren NH_4-Salzen meistens der Fall ist. Ferner aber hat sich gezeigt, daß besonders bei sauerer Reaktion des Nährmediums in Gegenwart von Nitraten die zur Ernährung der höheren Pflanzen nötigen Kationen — besonders Ca, Mg und K — in sehr viel geringeren Mengen in der Nährlösung vorhanden zu sein brauchen, um normales Wachstum zu bewirken, als wenn Ammoniumsalze als N-Quelle den Pflanzen dargeboten werden. Das ist höchstwahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß bei den Nitraten der Stickstoff als Anion vorkommt. Wenn dieses NO_3-Jon in die Zelle eindringt, so muß es immer ein Kation mitreißen, falls nicht ein Jonenaustausch an der Grenzfläche Zelle-Nährlösung erfolgt. Da wegen des im Vergleich zu den Aschenbestandteilen großen Stickstoffbedarfs der Pflanzen die NO_3-Aufnahme schnell erfolgt, so müssen natürlich auch relativ große Mengen der Alkalien und Erdalkalien mit in die Zellen transportiert werden. Anders liegen die Verhältnisse bei den NH_4-Salzen, z. B. bei NH_4Cl. Hier kommt der Stickstoff als Kation vor. Es kann daher natürlich mit der N-Aufnahme eine solche der Alkalien und Erdalkalien nicht gekoppelt sein. Um aber dennoch eine gleich starke Aufnahme von Kalzium und Magnesium durch die Pflanzen zu erzielen, muß man jetzt den Gehalt der Außenlösung an diesen Stoffen stark erhöhen. Die Nitrate sind also auch deshalb für die Pflanzen von größerem Nutzen als die Ammoniumsalze, weil das NO_3-Jon nicht allein die N-Versorgung sicherstellt, sondern auch als Transportion das Eindringen der Alkali- und Erdalkali-Jonen fördert.

E. Nitrite als N-Quellen für höhere Pflanzen[1])

Als Stickstoffquellen für höhere Pflanzen kommen im allgemeinen nur Nitrate und Ammoniumsalze in Frage. Vereinzelt trifft man aber auch Angaben, daß Nitrite brauchbare N-Quellen darstellen. Da nun

[1]) Mevius, W., und Dikussar, J., Nitrite als N-Quellen für höhere Pflanzen. Ein Beitrag zur Frage nach der Assimilation des Nitratstickstoffs. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. 73, 1930, S. 633.

immer dabei angegeben wird, daß dieses nur der Fall ist, wenn die Lösung nicht sauer reagiert, so hat Verf. es sich gemeinsam mit Dikussar als erste Aufgabe gestellt, die Abhängigkeit der Wirkung der Nitrite von der Bodenreaktion zu untersuchen und die Ursache der ungünstigen Wirkung dieser Salze bei sauerer Reaktion aufzuhellen. Weiterhin sollten aber auch vergleichende Untersuchungen mit den drei verschiedenen Gruppen von N-Salzen—Nitrite, Nitrate, Ammoniumsalze — angestellt werden, um zu erkennen, in welcher Form der Nitratstickstoff von der grünen Pflanze assimiliert wird. Es bestehen hier die verschiedensten Ansichten: direkte Reduktion der Salpetersäure zu Ammoniak oder stufenweise Reduktion zu Ammoniak über salpetrige Säure oder Reduktion zu salpetriger Säure und daraus Bildung von Formhydroxamsäure. Schließlich sollte auch noch geprüft werden, ob der N-Haushalt grüner Pflanzen mit dem Kaliumhaushalt in irgendeinem Zusammenhang steht. Diese Frage ist deshalb von besonderer Bedeutung, weil wir noch nicht wissen, welche Aufgabe das Kalium in der Pflanze zu erfüllen hat. Sicher ist nur, daß das Kalium für alle Pflanzen ein lebenswichtiger Stoff ist und daß die Landwirtschaft beim Kulturboden dafür zu sorgen hat, daß dieser immer genügend Kalium führt, soll nicht eine Mißernte die Folge sein. Nach den eigenen Untersuchungen stellen bei neutraler bis alkalischer Reaktion die Nitrite für den Mais eine sehr gute N-Quelle dar. Auch bei saurer Reaktion können sie noch ein vollwertiger Nährstoff sein, wenn sie in ganz geringen Dosen den Wurzeln dargeboten werden. Etwas größere Gaben töten die Wurzeln in wenigen Stunden ab. Eindeutig zeigte sich, daß die Giftwirkung von der Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung abhängig ist, und zwar ist das Jonenprodukt $H \times NO_2$ allein dafür maßgebend. Hieraus kann geschlossen werden, daß wie bei den NH_4-Salzen auch hier die C_H einen indirekten Einfluß ausübt, indem sie den Grad der hydrolytischen Spaltung der Nitrite bestimmt, und daß es das dabei entstehende HNO_2-Molekül bzw. seine Zerfallsprodukte N_2O_3, NO_2 und NO sind, die eine spezifische Giftwirkung ausüben. Allen diesen Stoffen ist ein leichtes Eindringen in die Zelle und außerdem eine leichte Reduzier- und Oxydierbarkeit eigen. Unter dem Einfluß von Nitriten können an der Pflanze zwei Arten von Vergiftungen auftreten, eine schnell verlaufende „akute“ Vergiftung, die sich schon nach wenigen Stunden zu erkennen gibt, und eine langsam verlaufende „chronische“. Im ersten Fall zeigen schon nach 5—9 Stunden

die Blätter starkes Welken. Es ist das die Folge einer Lähmung der lebenden Zellen in den resorbierenden Wurzelzonen. Nach 30 bis 36 Stunden sind große Teile der Wurzeln abgestorben. Entweder kommt es dann zu einem Stillstand der Wurzelzerstörungen oder die Pflanzen gehen ein. Im ersten Falle treibt die Pflanze neue Nebenwurzeln aus, welche die gleiche Nitritkonzentration ohne die geringsten Schäden ertragen. Der Stickstoffhaushalt in den Wurzeln erfährt bei dieser Form der Vergiftung charakteristische Veränderungen. In den ersten Stunden nimmt der Gehalt an löslichen N-Verbindungen zu. Sodann aber erfolgt ein starker Abfall der Fraktionen Amino-N und Amid-N. Sehr wahrscheinlich ist dieser Abfall die Folge der Reaktion ihrer Aminogruppen mit den eingedrungenen N_2O_3-Molekülen. Diese akute Form der Nitritvergiftung wird auch in der Landwirtschaft beobachtet. Werden z. B. bewässerte Reisfelder mit Nitraten gedüngt, so können durch denitrifizierende Bakterien, die sich besonders in sauerstoffarmen Böden entwickeln, Nitrate zu Nitriten reduziert werden. Findet diese Reduktion in saueren Böden statt, so sind die Bedingungen für eine Nitritvergiftung gegeben. Aber auch nach einer Ammoniakdüngung kann es im Boden gelegentlich zu einer Anreicherung von Nitriten kommen. Durch die oxydierende Tätigkeit von Nitritbakterien wird das Ammoniak zu salpetriger Säure verbrannt. Meistens wird diese Säure weiter zu Salpetersäure aufoxydiert und zwar durch die Nitratbakterien. Gelegentlich kommt es aber vor, daß die zweite Oxydation im Verhältnis zur ersten stark gehemmt ist, so daß dann der Boden an Nitriten angereichert wird.

Wie es möglich ist, daß sich einige Wurzelteile stärkeren Nitritkonzentrationen „anpassen“ können, läßt sich noch nicht einwandfrei erklären. Es wird vom Verf. vermutet, daß sich das Oxydo-Reduktionspotential in der Zelle dem Oxydo-Reduktionspotential der HNO_2-Lösung stark genähert hat, so daß die salpetrige Säure oder ihre Zerfallsprodukte ihre oxydierenden bzw. reduzierenden Eigenschaften nicht mehr entfalten können.

Bei der „chronischen“ Nitritvergiftung stellen die Wurzeln langsam ihr Wachstum ein, nehmen an Dicke zu, färben sich gelbgrau und sterben unter Umständen ab. Wie ihr N-Haushalt zeigt, liegt hier eine typische Ammoniakvergiftung vor. Das durch Reduktion aus NO_2 entstandene NH_3 hat sich wegen bestimmter äußerer Faktoren so stark in den Zellen angereichert, daß es schädlich ist. Diese Nitritver-

giftung ist im Gegensatz zu der „akuten“ von dem Kohlehydrathaushalt der Pflanzen abhängig.

Aus den verschiedenen Untersuchungen konnte geschlossen werden, daß die Assimilation der Nitrate in der grünen Pflanze über salpetrige Säure und Ammoniak erfolgt.

Bei allen drei zur Anwendung gekommenen Stickstoffquellen kann der N-Haushalt der Pflanzen durch eine verstärkte Kaliumzufuhr erheblich beeinflußt werden. Kaliarme Pflanzen besitzen immer einen größeren Gehalt an Gesamt-N als kalireiche. Auch hat sich bei ersteren das Verhältnis Eiweiß-N zu löslichem N zugunsten des letzteren verschoben. Aus dieser Beobachtung kann geschlossen werden, daß die N-Aufnahme durch den Gehalt an Kalium-Jonen in der Nährlösung stark beeinflußt wird. Allem Anschein nach ist aber das Kalium keineswegs an der Eiweißsynthese beteiligt, eine Annahme, die oft gemacht, aber niemals bewiesen worden ist.

3. Untersuchungen über Ionenwirkungen auf Pflanzen[1])

Von Hans Fitting

Die Pflanze ist mit ihren Wurzeln im Boden, bei untergetaucht lebenden Wassergewächsen auch mit Stengeln und Blättern von Wasser umflutet, das mehr oder weniger Salze, also Elektrolyte, enthält. Diese werden bekanntlich in geringeren oder größeren Mengen von der Pflanze aufgenommen und über den ganzen Körper verteilt. Die Frage ist daher sehr wichtig, welche physiologischen oder sonstigen Wirkungen von diesen recht verschiedenen Salzen, oder richtiger gesagt, Salzionen, ausgehen. Soweit die Ionen nicht notwendige eigentliche Nährstoffe sind, können sie als stimulierende Reizstoffe unentbehrlich oder wenigstens förderlich sein; oder sie mögen wohl auch gleichgültig sein; teilweise sind sie sogar mehr oder weniger schädlich. Trotz vielen Vorarbeiten liegt hier noch immer ein sehr weites Feld für physiologische Forschungen offen, das reiche Ausbeuten verspricht, da die Abhängigkeit nur sehr weniger pflanzenphysiologischer Vorgänge von der Qualität und Quantität der Elektrolytionen bisher hinreichend genau systematisch untersucht worden ist.

Schon im vorigen Abschnitt wurde auf die vielfach sehr engen Beziehungen zwischen Wasserhaushalt und Stoffwechsel hingewiesen. Eine solche hat z. B. Molisch auch gefunden zwischen der Transpiration und dem Stärkeabbau in Blättern von Landpflanzen, ohne diese wichtige Beobachtung aber hinreichend weiter verfolgt zu haben. Dies ist erst in einer Arbeit geschehen, die ich von Frl. Leonie Schmetz (Bot. Archiv Bd. 10, 1925; S. 16ff.) habe ausführen lassen. Die Genannte fand, daß der Stärkeabbau nicht eigentlich Folge einer gesteigerten Transpiration, sondern eines Wassermangels in den Blättern ist, und zwar gleichgültig, ob ein solcher durch Transpiration ohne hinreichenden Wassernachschub oder durch osmotischen Wasserentzug seitens hoher Salz- oder Zuckerkonzentrationen bewirkt wird, auf

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Bonn.

denen man die abgeschnittenen Blätter schwimmen läßt. Daher sollen Salzlösungen ganz verschiedener chemischer Zusammensetzung, falls sie nur den Blättern gleich viel Wasser entziehen (isosmotische Lösungen), gleich starken Stärkeschwund bedingen. Da es mir aber im Hinblick auf die vielfachen sonstigen Wirkungen von Salzionen auf physiologische Vorgänge sehr zweifelhaft blieb, ob die Salzionen in allen Konzentrationen nur durch Wasserentzug, nicht aber auch durch sonstige, spezifische, etwa chemische, Wirkungen den Stärkeabbau beschleunigen, stellte ich Frl. Elisabeth Steinhoff[1]) u. a. die Aufgabe, die Einwirkung verschiedener Salzkonzentrationen auf den Stärkeabbau noch genauer zu untersuchen, als dies durch Frl. Schmetz geschehen war. Wenn auch infolge des jahreszeitlich verschiedenen und oft auch launenhaften Verhaltens der Versuchspflanzen überraschenderweise große experimentelle Schwierigkeiten auftauchten, traten bei den Versuchen ausgesprochene Unterschiede zwischen den Anionen NO_3, Cl und SO_4 hervor, und zwar in dem Sinne, daß bei gleichen Ionenkonzentrationen das erste Ion den Stärkeabbau am meisten, das letzte am schwächsten förderte. Nicht ganz so gesichert scheint mir dagegen ihr Schluß, daß die geprüften Kationen (nämlich Kalium, Natrium, Kalzium und Magnesium, als Nitrate geprüft) den Stärkeabbau ziemlich gleich beeinflussen, da hier leider nur Lösungen mit gleichen molaren, aber nicht mit solchen gleicher Ionenkonzentrationen verwendet wurden. Immerhin geht aus diesen orientierenden Untersuchungen so viel hervor, daß die Salze tatsächlich nicht nur osmotisch durch Wasserentzug, sondern daß sie außerdem auch durch ihre Ionen in spezifischer, uns natürlich noch ganz unbekannter Weise Einfluß auf den Stärkeabbau üben. Es dürfte auf ihre Konzentration ankommen, welcher Faktor dabei überwiegt. —

Von den in allen Böden mehr oder weniger verbreiteten Metallionen hat die Wirkung des Aluminiumions auf Pflanzen bisher verhältnismäßig wenig exakte experimentelle Behandlung gefunden. Da alle löslichen Aluminiumsalze sauer sind, bereiteten die in ihren Lösungen stets vorhandenen Wasserstoffionen solchen Untersuchungen auch große Schwierigkeiten. Die Ansichten in der Literatur darüber, ob das Aluminiumion schädlich oder gleichgültig oder gar nötig ist, und ob etwa bemerkenswerte Stimulationswirkungen von ihm aus-

[1]) Steinhoff, E., Über den Einfluß von Salzen auf den Stärkeabbau in Blättern einiger Land- und Wasserpflanzen. Planta Bd. 11, 1930; S. 207ff.

gehen, widersprechen daher einander sehr. Möglicherweise verhalten sich auch die Pflanzenarten in diesen Beziehungen dem Aluminium gegenüber ganz verschieden. Es schien um so notwendiger, das Aluminiumproblem von neuem experimentell intensiver als bisher in Angriff zu nehmen, weil in der Landwirtschaft die Schädigungen der Kulturpflanzen saurer Böden auf die durch sog. Austauschazidität entstandenen freien Aluminiumionen zurückgeführt worden sind (Kappen); und zwar bedurfte die Frage dringend gründlichster Klärung, ob die leicht zu beobachtenden Giftwirkungen der Aluminiumsalze von den Aluminiumionen oder von den daneben stets vorhandenen Wasserstoffionen ausgehen. Auf meine Anregung hat Ferdinand Brambring solche Untersuchungen unternommen[1]). Lediglich um größere, vielleicht nur schwer überwindbare experimentelle Schwierigkeiten zu vermeiden, schlug ich ihm vor, für seine Forschungen zunächst einmal nur submerse Wasserpflanzen zu verwenden. Denn sie sind gegen Aluminiumsalze recht empfindlich; außerdem ist es bei ihnen viel leichter als bei Landpflanzen, die Salze an die lebenden Zellen in Lösungen heranzubringen, ohne sonstige Störungen ihrer normalen Umwelt und ohne zugleich unkontrollierbare Einflüsse schwer ausschließbarer Faktoren befürchten zu müssen; endlich lassen sich bei ihnen leicht die schädigenden Wirkungen der Salze erkennen. Es kam uns dabei nur darauf an, zu ermitteln, auf welche Ursachen die tödlichen Wirkungen der Aluminiumsalze zurückgeführt werden müssen; als Schädigungsgrad galt dabei die Zeitdauer vom Beginn der Salzeinwirkung bis zur Abtötung der (Blatt-) Zellen. Sämtliche Salzlösungen wurden in den Versuchen als Normallösungen verwendet; d. h. bei den Salzlösungen wurde der Gehalt der Metallkationen, bei den Säurelösungen der der Wasserstoffionen auf Wasserstoff = 1 bezogen.

Nachdem die tödliche Wirkung gewisser Aluminiumsalzkonzentrationen auf die Versuchspflanzen festgestellt worden war, zeigte sich alsbald, daß bei gleichen Wasserstoffionenkonzentrationen die Lösungen der Aluminiumsalze weniger giftig sind als die der zugehörigen reinen Säuren. Das gilt auch für komplexe Aluminiumsalze, die für unsere Versuche deshalb besonders wertvoll waren, weil in ihren Lösungen das Aluminium auch noch über den Neutralitätspunkt hinaus

[1]) Brambring, F., Untersuchungen über die Wirkungen des Aluminiums auf Wasserpflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 73, 1930; S. 241ff.

in Lösung bleibt, so daß seine Wirkungen nun ganz unabhängig von der H-Jonenkonzentration untersucht werden können. Die Giftwirkungen der Aluminiumsalzlösungen müssen also den in ihnen vorhandenen freien H-Jonen zugeschrieben werden. Ja die geringere Giftigkeit der Salze gegenüber den Säuren deutet darauf hin, daß das Aluminiumion sogar eine entgiftende Wirkung auf die Wasserstoffionen ausübt. Eine solche entgiftende Wirkung zeigte das Aluminiumion ferner auch noch gegenüber giftigen Metallkationen, wie z. B. Magnesium. Aber nicht nur das Aluminiumion kann das Wasserstoffion mehr oder weniger entgiften; auch das Kalzium-, das Kalium- und das Natriumion zeigten diese Eigenschaft, und zwar Ca>K>Al >Na>Mg. Dabei können sich die K- und die Ca-Jonen in ihren entgiftenden Wirkungen mit dem Aluminiumion addieren. Bemerkenswert ist ferner, daß die entgiftende Wirkung des Aluminiumions nur wenig hinter der des Ca-Jons zurücksteht. Die Anionen entgiften dagegen die Wasserstoffionen nicht.

Wie weit sich die Befunde Bramrings auf Land-, im besondern Kulturgewächse übertragen lassen, steht natürlich noch dahin. Bemerkenswert ist immerhin, daß Bohlmann (1926) freilich mit ganz anderen, wohl nicht ganz einwandfreien Methoden bei einigen Kulturpflanzen ebenfalls zu dem Ergebnis gekommen ist, daß die schädigende Wirkung der Aluminiumsalze im Boden nicht von den Aluminiumionen, sondern nur von den Wasserstoffionen ausgeht. Brambring weist mit Recht darauf hin, daß die in den sauren Böden frei werdenden Aluminiumionen voraussichtlich mit den Humussäuren Komplexsalze bilden dürften, deren Unschädlichkeit bis zu hohen Konzentrationen von uns wenigstens für Wasserpflanzen besonders überzeugend nachgewiesen werden konnte. Nach den Versuchen Bramrings wäre eine Weiterführung der Untersuchungen bei Landpflanzen gewiß recht wichtig, auch schon um die Frage zu klären, ob das Aluminium allgemein im Pflanzenreich unschädlich ist, oder ob es nicht doch Gewächse gibt, auf die es mehr oder weniger giftig wirkt.

VIII

Mykologische und bakteriologische Fragen

1. Die Frage nach der Bindung des freien Stickstoffs durch Pilze und Bakterien[1])

Von Wilhelm Benecke

Zu den wichtigsten, gleichwohl im Grunde am wenigsten geklärten Fragen des Stoffwechsels der Pflanzen gehört die Frage nach der Bindung des freien Stickstoffes durch Pilze und Bakterien. Eine Durchsicht der umfangreichen Literatur über dieses Problem zeigt, daß die Ergebnisse vieler einschlägiger Arbeiten aus dem Grunde schwer zu beurteilen sind, weil die Methodik oft nicht hinreichend genau angegeben wird, weil häufig die Sicherheit mangelt, daß bestimmte Fehlerquellen, vor allem die Stickstoffverbindungen in der Luft, ausgeschlossen sind, weil endlich nicht selten der Stickstoffgewinn, der gebucht wird, so geringfügig ist, daß man sich dem Eindruck kaum verschließen kann, er falle in die Fehlergrenzen.

Bei dieser Sachlage war es nicht überflüssig, einen Pilz, der schon häufig mit wechselvollen Ergebnissen auf seine Befähigung zur Fixierung des Stickstoffs untersucht war, nämlich den schwarzen Gießkannenschimmel, erneut in dieser Hinsicht zu untersuchen, um so weniger, als vor kurzem Schober (1930) in einer eingehenden Studie zu dem Ergebnis gekommen war, daß der genannte Pilz zur Stickstoffbindung befähigt ist[2]). Mathilde Schröder nahm deshalb 13 Sippen des Aspergillus niger in Kultur, darunter auch solche, welche Schober in den Händen gehabt hatte, und züchtete sie auf Nährlösungen, die aus reinem destilliertem Wasser und ganz reinen Nährstoffen hergestellt, z. T. dieselbe Zusammensetzung hatten, welche

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) M. Schröder, Zur Frage der Assimilation des Luftstickstoffs durch Aspergillus niger. Jahrb. f. wiss. Bot. 1931, Bd. 75, S. 377. — Dies., Die Assimilation des Stickstoffs durch einige Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. II, 1932, Bd. 85, S. 177. — M. Roberg, Zur Frage nach der Assimilation des molekularen Stickstoffs durch Aspergilleen. Zentralbl. f. Bakt. II, 1932, Bd. 86, S. 466. — O. Krebber, Untersuchungen über die Wurzelknöllchen der Erle. Arch. f. Mikrobiol. 1932, Bd. 3, S. 588.

Schober empfiehlt, z. T. auch Gaben von Zn, Cu, Mo, Wo usw. enthielten und keine Stickstoffverbindungen führten. Die Luft wurde, bevor sie Zutritt zu den Nährlösungen hatte, mittels Durchleitung durch Schwefelsäure gereinigt. Zur Bestimmung des nach vollendeter Kulturdauer gebundenen Stickstoffs wandte Schröder, wie es auch Schober getan hatte, die Mikrokjeldahlmethode nach Pregl an. In keinem Falle konnte in überaus zahlreichen, vielfach abgewandelten Versuchen ein sicherer Gewinn an gebundenem Stickstoff festgestellt werden. Die Analyse ergab nämlich, daß bestenfalls etwa 0,13 mg Stickstoff, meistens aber weniger in gebundener Form in 100 ccm der Nährlösung vorhanden war; auf eine Stickstoffbindung kann aus solchen Zahlen nicht geschlossen werden. Wie sich nun der Unterschied gegen Schober erklärt, ist fraglich. Vielleicht hatte er, ohne es zu wissen, einen uns noch unbekannten Katalysator in seinen Nährlösungen, welcher den Pilzen die Stickstoffbindung ermöglichte. Das kann dann aber weder Fe, Cu, Zn, Mo, Wo oder Si gewesen sein. Auch kann dieser fragliche Katalysator für das Wachstum des Pilzes bei Zufuhr von Stickstoffverbindungen nicht unerläßlich sein, denn Zugabe von solchen ermöglicht alsbald flottes Pilzwachstum auf den Schröderschen Lösungen, die ohne jene Stickstoffverbindungen keinen Ertrag gegeben hatten.

Auch Max Roberg wandte sich der Bearbeitung derselben Frage an Aspergillus-Kulturen zu. Er studierte mehr als 20 Sippen des Gießkannenschimmels, darunter eine frisch aus der Natur eingefangene, ferner auch solche, die Schober untersucht hatte, auf ihre Befähigung zur Stickstoffixierung. Vielfach wurde versucht, die benutzten Stämme durch vorherige Erdbodenpassage zu kräftigen, auch Zugaben der verschiedensten Stoffe, die vielleicht als Katalysatoren hätten in Frage kommen können, wurden versucht: Alles ohne Erfolg, keine der Sippen band den Stickstoff der Luft. Eine Erklärung der gegenteiligen Befunde Schobers war auch Roberg unmöglich; eine Degeneration infolge von langer Kulturdauer kann nicht in Frage kommen.

Während die Bindung des freien Stickstoffs durch Aspergillus somit noch ganz kontrovers ist, zweifelt kaum ein auf diesem Gebiete orientierter Forscher daran, daß Azotobacter dazu befähigt ist. Klarheit über die Bedingungen, unter denen dieser Spaltpilz seine Befähigung ausübt, herrscht aber noch keineswegs. M. Schröder zog auch Azotobacter in den Bereich ihrer Untersuchungen und konnte

auf manchen Erfahrungen neuerer Forscher, zumal Bortels, weiterbauend zeigen, daß es in Reinkulturen, die in genau definierbaren Lösungen gezüchtet werden, nur dann zu einem Gewinn an gebundenem Stickstoff kommt, wenn außer einer geeigneten Kohlenstoffquelle (z. B. Zucker) und den üblichen Nährsalzen mit Einschluß von Kalksalzen noch Zusätze von Fe, Cu, Zn, Wo, Mo und Si geboten wurden. (Falls Leitungswasser anstatt des destillierten als Lösungsmittel diente, so konnte der Zusatz von Si und Wo entbehrt werden, auch durch Bodenextrakt oder durch Agar konnten die genannten Stoffe ersetzt werden.) Der Gewinn an gebundenem Stickstoff war nicht unerheblich und belief sich auf 20, ja 30 mg in 100 ccm. Über die Rolle der genannten Zusätze konnte noch keinerlei Klarheit geschaffen werden.

Kulturen, welche weder organische Kohlenstoffverbindungen noch gebundenen Stickstoff erhielten, sondern nur die üblichen Aschensalze und welche sodann mit Azotobacter sowie mit der Grünalge Chlorella gleichzeitig beimpft wurden, ergaben Wachstum dieser beiden Symbionten und Gewinn an gebundenem Stickstoff in Bestätigung ähnlicher Versuche von Lipman und Teakle. Der Gewinn an gebundenem Stickstoff entsprach nach 48tägiger Kulturdauer etwa 4 mg Stickstoff in 100 ccm.

Schröder isolierte und untersuchte ferner das von Beijerinck entdeckte Spirillum lipoferum in Reinkultur, einen Spaltpilz, der im Erdboden offenbar sehr weit verbreitet ist. Es war nicht möglich, Stickstoffbindung durch ihn nachzuweisen in Nährlösungen, welche keine N-Verbindungen, aber um Wachstum und evtl. N-bindung zu fördern, Torfwasser, Humussäuren, Bodenauszug enthielten.

Endlich wandte sie sich Pseudomonas tumefaciens zu, um zu untersuchen, ob dieser Erreger pflanzlicher Tumoren die Befähigung zur Stickstoffbindung, welche Israilsky für ihn in Anspruch nimmt, besitzt. Reinkulturen in gleichen oder ähnlichen Nährlösungen wie die für Spirillum lipoferum verwendeten, erbrachten nur einen geringfügigen Stickstoffgewinn, der aber nicht als gesichert betrachtet werden darf, sondern vielleicht auf unvermeidlichen Versuchsfehlern beruht (ca. 0,5 mg Stickstoff in 100 ccm). Versuche, Spir. lipof. und Ps. tumefaciens unter Zusatz von chemisch definierbaren „Katalysatoren" zu züchten (Fe, Zn, Cu, Mo, Wo usw.), stehen noch aus.

Otto Krebber untersuchte die seit langen Jahren bekannte Symbiose zwischen den Erlenwurzeln und den immer noch nicht genau

bekannten Mikroorganismen, welche die Bildung von Rhizothamnien an den Erlenwurzeln auslösen. Der erste Teil seiner Studien galt der Nachuntersuchung der Hiltnerschen Beobachtung, daß diese Symbiose auf eine Bindung des freien Stickstoffs hinausläuft. Er führte den Nachweis, daß Erlen, die keine Wurzelknöllchen besitzen, nur bei Zufuhr stickstoffhaltiger Nährsalze gedeihen können. Impft man knöllchenfreie Erlen, die in Nährlösungen ohne stickstoffhaltige Nährsalze gezüchtet werden mit Knöllchenextrakt, so bilden sich bald Knöllchen an den Wurzeln aus, und die bis dahin deutlichen Anzeichen des Stickstoffhungers schwinden. Nach einjähriger Kulturdauer war ein Unterschied zwischen solchen Bäumchen, die in vollständigen Nährlösungen (Stickstoffquelle: Nitrate oder Ammoniumsalze) und solchen, welche mit Knöllchen in einer Nährlösung ohne Stickstoffverbindung wuchsen, nicht zu erkennen. Beide waren reichlich 1 bis 5/4 m hoch, während knöllchenfreie Erlen, die ohne Zufuhr von Stickstoffsalzen wachsen mußten, eine Höhe von nur knapp 20 cm erreicht hatten. Hiltners Angaben konnten also bestätigt werden.

Der zweite Teil der Krebberschen Arbeit bezweckte die Isolierung und Reinkultur des Knöllchenerregers, die leider trotz vieler Bemühungen nicht gelingen wollte. Der Verfasser konnte im wesentlichen nur bestätigen, daß es sich wahrscheinlich um einen Actinomyceten handeln dürfte. Die Frage, ob dieser Mikroorganismus in Reinkultur den Stickstoff binden kann, oder ob er erst durch die Symbiose mit der Erle dazu befähigt wird, oder endlich, ob die Erle ihrerseits es ist, die durch die Symbiose mit dem Actinomyceten die Fähigkeit zur Stickstoffixierung erhält, mußte somit offen gelassen werden. Die von Krebber gezüchteten Erlenbäumchen werden z. B. von Max Roberg weiter kultiviert.

2. Untersuchungen an Pseudomonas tumefaciens und Actinomyceten[1])

Von Wilhelm Benecke

Eine kleine Studie Karl Schätzels[2]) befaßt sich mit der Morphologie und Physiologie des bakteriellen Krebserregers Pseudomonas tumefaciens (siehe auch oben S. 255).

Nach Lieske ist Pseudomonas tumefaciens eine stark pleomorphe Form, die beim Übertragen in Milch in ultravisible, filtrierbare Entwicklungsstadien übergehen soll, während die typische Stäbchenform in diesem Medium verschwindet. Im Einklang mit den Angaben von Israilsky konnte Schätzel diese eigenartige Behauptung Lieskes keineswegs bestätigen. Es gelang ihm überhaupt nicht, den Nachweis von filtrierbaren Stadien zu führen. Auch Symplasma oder ähnliche Dinge konnten nicht gefunden werden. Die Arbeit enthält außerdem Angaben über die Ernährung in gut definierten Lösungen, auch über die strittige Frage, ob die häufig gefundene sog. Sternchenbildung Kopulationsstadien sein könnten, was der Verf. für unwahrscheinlich hält. Sog. Dissoziationserscheinungen, welche bei vielen anderen Bakterien auftreten, konnten nicht gefunden werden. Impfversuche an Sonnenblumen, Oleander, Wolfsmilch gelangen; in den Wolfsmilchtumoren konnten Milchröhren nicht nachgewiesen, somit auch keine Entscheidung darüber getroffen werden, ob Keime des Pseudomonas tumefaciens durch den Milchsaft innerhalb der infizierten Pflanze verschleppt werden und „Metastasen" erzeugen.

Erna Tempel[3]) stellte physiologische Untersuchungen an Strahlenpilzen an, die sie z. T. selbst frisch aus dem Erdboden isoliert hatte. Ihr besonderes Augenmerk galt der Variabilität, und sie konnte in Übereinstimmung mit vielen anderen Forschern zeigen, daß zumal

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) Karl Schätzel, Beiträge zur Morphologie und Physiologie des bakteriellen Krebserregers. Phytopath. Z., 1932, Bd. 5, S. 251.

[3]) E. Tempel, Untersuchungen über die Variabilität der Actinomyceten. Arch. f. Mikrobiol., 1931, Bd. 2, S. 40.

die Farbstoffbildung und Erzeugung von Geruchstoffen stark von den jeweiligen Lebensbedingungen abhängt. Eine dauernde, erbliche Umstimmung konnte aber für keine Eigenschaft ermittelt werden, auch nicht für die Beziehungen zum freien Sauerstoff. Jedenfalls konnte eine Umwandlung aerober Formen in anaerobe nicht erzielt werden. Auch jene sprungweise, erbliche Umänderung der Farbe, die sich in Kolonien auf starren Nährböden durch die sog. Sektorenbildung (Lieske) äußert, die als Beispiele für sog. Saltationen in der Literatur angeführt werden, und an deren Vorkommen bei anderen Strahlenpilzen nicht zu zweifeln ist, konnte die Verfn. bei ihren Stämmen nicht ermitteln. Es muß daher vorderhand unentschieden bleiben, ob solche, an Mutationen erinnernde Dauermodifikationen (Klonveränderungen) nur bei bestimmten Sippen oder nur unter ganz bestimmten, noch unbekannten Lebensbedingungen vorkommen. — Wegen des unterschiedlichen Verhaltens der von Tempel untersuchten Stämme auf verschiedenen Nährlösungen — (verschiedenen N- und C-Quellen) sei auf die Arbeit verwiesen.

3. Untersuchungen über Nitritbakterien[1])

Von Horst Engel[2])

Vor mehr als 40 Jahren machte Winogradsky die denkwürdige Entdeckung (1890), daß die Nitrifikationsbakterien von Kohlensäure leben; um diese zu reduzieren, machen sie sich nicht, wie die Chlorophyllpflanzen die Lichtenergie, sondern die im Ammoniak und der salpetrigen Säure steckende potentielle chemische Energie zunutze. Winogradsky schlug so eine Bresche in die Lehrmeinung, daß lediglich Chlorophyllpflanzen zur Kohlensäureassimilation befähigt seien. Seitdem ist zwar sehr viel, zumal von landwirtschaftlichen Gesichtspunkten aus, über die genannten Bakterien gearbeitet worden, aber wie Winogradsky selbst gelegentlich bedauernd bemerkt, sind wesentliche Fortschritte der Kenntnisse von Morphologie und Physiologie dieser Wesen neuerdings kaum gemacht worden. Es war nun verlockend, einmal erneut zu untersuchen, ob die von Zeit zu Zeit immer wieder auftauchende Behauptung zutrifft, daß diese von ihrem Entdecker als streng autotroph angesprochenen Spaltpilze auch als Saprophyten leben können. Hat doch Winogradsky selbst die durchaus ansprechende Meinung verfochten, daß es vielleicht gelingen könne, im Laboratorium unter geeigneten künstlichen Lebensbedingungen heterotrophe Sippen von Nitrobakterien zu züchten. Der Aufgabe, dieser Frage an der Hand von Kulturen des Nitritbildners nachzugehen, hat sich Johann Heubült unter Leitung von W. Benecke unterzogen. Es gelang ihm, mit Hilfe der Verdünnungsmethode den Nitritbildner in Reinkultur zu gewinnen. Dieser entsprach morphologisch i. W. der Winogradskyschen Form, lebte autotroph und konnte trotz vieler Bemühungen nicht an die Verarbeitung organischer Stoffe gewöhnt werden. Kohlensäure war vielmehr unbedingt zur Ernährung nötig, gute Durchlüftung wesentlich. Schwärmstadien, die „Monaden" Winogradskys, konnten

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) J. Heubült, Untersuchungen über Nitritbakterien. Planta 1929, Bd. 8, S. 398. — H. Engel, Die Kohlenstoffassimilation des Nitritbildners. Planta 1929, Bd. 8, S. 423. — Ders., Weitere Untersuchungen über Nitritbakterien. Planta 1930, Bd. 12, S. 60.

zuerst nicht gefunden werden, vielmehr nur Zooglöen. Die Schwärmer fand aber später der Verf. dieser Zeilen bei den von Heubült isolierten Stämmen. Jene eigenartigen Formen des Nitritbildners, die Winogradsky neuerdings als Nitrosospiren bezeichnet, konnten im Münsterischen Botan. Institut bisher nicht beobachtet werden, allerdings wurde auch nicht besonders danach gefahndet.

Im Anschluß an Heubült stellte ich dann mit Hilfe einer von mir ausgearbeiteten Methode zur Bestimmung sehr kleiner Mengen von organisch gebundenem Kohlenstoff (Verbrennung der Kohlenstoffverbindungen auf nassem Wege und Auffangen der Kohlensäure) fest, daß die von Heubült isolierten Nitritbildner, ganz wie die alten Winogradskyschen Formen, aus Kohlensäure organische Stoffe bilden. Die Menge des oxydierten Ammoniakstickstoffs verhielt sich zur Menge des assimilierten Kohlenstoffs wie 70 zu 1 (während Winogradsky das Verhältnis 35 zu 1 gefunden hatte). In weiteren Untersuchungen über Nitritbakterien habe ich dann einen für ihre Züchtung behufs Vermeidung von Fehlerquellen besonders geeigneten Kulturkolben beschrieben; bei der Anhäufung organischen Materials in diesem Kolben verhielt sich nunmehr die Menge des oxydierten NH_3-Stickstoffs zu der des assimilierten Kohlenstoffs wie 80 zu 1, also ungefähr wie oben. — (Vgl. dazu auch die späteren, nicht im Münsterischen Botanischen Institut durchgeführten Versuche von H. Engel im Arch. f. Mikrobiol., 1930, Bd. 1 S. 445).

Ist es somit gelungen, die Winogradskyschen Erfahrungen über die autotrophe Ernährung des Nitritbildners durchaus zu bestätigen, so ist es nicht geglückt, ihn künstlich als Saprophyten zu züchten. Daß das im Laufe der Zeit noch gelingen wird, ist um so wahrscheinlicher, als neuerdings Purpurschwefelbakterien, die bis dahin als streng autotroph galten, auch zum heterotrophen Leben gezwungen werden konnten. Die Grundbedingung bei allen solchen Versuchen muß aber die Gewißheit sein, daß man mit Reinkulturen, nicht mit Verunreinigungen arbeitet.

4. Über die Wirkung von Eisen, Zink und Kupfer auf Aspergilleen[1])

Von Max Roberg

Lange ist es eine Streitfrage geblieben, ob Pilze zu ihrem Wachstum außer den bekannten, auch für höhere Pflanzen notwendigen Nährstoffen wie Phosphor, Stickstoff usw. gewisser Schwermetalle, wie Eisen, Zink und Kupfer bedürfen. Die Forscher, die sich seit den Tagen Raulins (1869), der als erster auf experimentellem Wege eine Lösung suchte, diesem Problem zuwandten, sind zu recht verschiedenen Ergebnissen gekommen, obwohl sie sich fast sämtlich desselben Untersuchungsobjektes bedienten, eines leicht zu kultivierenden Schimmelpilzes, Aspergillus niger.

Dieser Widerstreit der Ergebnisse und Meinungen findet seine Erklärung darin, daß es früher nicht gelingen wollte, die Nährlösung völlig von Schwermetallen zu befreien, und so wurden unbewußt und unbeabsichtigt als Verunreinigung der Reagentien eine gewisse Menge der Stoffe den Pilzen geboten, deren Wirkung studiert werden sollte. Erst als es mittels verfeinerter Methoden gelang, die Nährmedien fast völlig von Schwermetallen zu befreien, war die Lösung der oben angeschnittenen Fragen näher gerückt.

Zur Befreiung der Nährlösung von Schwermetallen stehen nun zwei Wege offen, das häufig wiederholte Umkristallisieren einerseits, das Verfahren der Reinigung durch Adsorption an geeignete Substanzen, wie Kalziumkarbonat und Kohle andererseits, abgesehen von der Destillation und Sublimation, die jedoch nur für bestimmte Stoffe angewendet werden können.

Verf. bediente sich[2]), um eine von Schwermetallen freie Nährlösung zu erhalten, nacheinander beider Methoden und versuchte

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) Roberg, M., Über die Wirkung von Eisen-, Zink- und Kupfersalzen auf Aspergilleen. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 74, 1928, S. 333. — Ders. Weitere Untersuchungen über die Bedeutung des Zinks für Aspergillus niger. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 84, 1931, S. 196.

zuerst durch Umkristallisation die Nährsalze zu reinigen. Später benutzte er auch das Adsorptionsverfahren und schüttelte die alkalische Nährlösung mit Kalziumkarbonat oder Kohle; die Metalle wurden als Hydroxyde und basische Phosphate niedergeschlagen, von den Adsorbentien festgehalten und durch Filtration entfernt. Der Mechanismus der Reinigung einer Nährlösung durch Kohle wurde genauer untersucht und die Veränderung des Nährmediums quantitativ ermittelt.

Das Ergebnis der Untersuchungen über die Bedeutung der Schwermetalle Eisen, Zink und Kupfer für Aspergilleen bedeutet eine Bestätigung der Ansichten von Steinberg und Bortels und ergibt:

Eisen und Zink sind als Nährstoffe für Aspergillus niger anzusprechen, ohne deren Gegenwart ein normales Wachstum nicht eintreten kann. Kupfer übt einen stimulierenden Einfluß[1]) aus, vergrößert die Pilzernte und ruft die Schwarzfärbung der Konidien hervor, die ohne diesen Zusatz einen gelblichen Ton annehmen. Weiter konnte festgestellt werden, daß nicht nur für Aspergillus niger, sondern auch für andere Aspergilleen, Aspergillus fumigatus und oryzae Zink und Eisen Nährstoffe darstellen.

In weiteren Versuchen wurde der Wirkung des Zinks bei verschiedener Nährstoffkonzentration des Mediums nachgegangen, ferner fand das Alter der zur Verwendung kommenden Sporen und die Kulturdauer eine Berücksichtigung. In allen Versuchen erwies sich Zink für Aspergillus als Nährstoff. Mochte die Nährstoffkonzentration geändert und der Zeitfaktor berücksichtigt werden, stets zeigte sich, daß ohne dieses Metall ein Wachstum nicht stattfinden konnte. Die Deckengewichte nahmen in Übereinstimmung mit den Befunden anderer Autoren proportional der gebotenen Nährstoffmenge zu. Das Resultat zeigt, graphisch wiedergegeben, eine fast gradlinig ansteigende Nährstoffkurve. Somit konnten auch frühere Ansichten, Zink wirke nur bei guter Ernährung günstig auf das Wachstum, bei schlechter übe es dagegen keinen oder einen hemmenden Einfluß aus, nicht bestätigt werden. Ebenso war das Alter des Impfmaterials ohne Bedeutung auf den Ausgang des Versuches. Die

[1]) Nach den neuesten Veröffentlichungen ist Kupfer für Aspergillus niger sogar ein Nährstoff.

Form, in der das notwendige Zink geboten wurde, war an sich belanglos.

Das für diese Kulturen benutzte Wasser war aus einem besonders konstruierten Glasapparat gewonnen worden, da sich gezeigt hatte, daß die nach früheren Methoden erhaltenen Destillate noch weiter gereinigt werden konnten, weil sie durch übergegangene Spritzer mit dem Ausgangswasser verunreinigt waren. Das Prinzip der Neuerung beruht darin, daß der Wasserdampf vor seiner Kondensierung eine Schicht von Ringen nach Raschig passieren muß und hier von den kleinsten mitgerissenen Wassertröpfchen befreit wird.

Da wir nunmehr über ein sehr reines Wasser verfügten, wurden Versuche mit Keimlingen von Onobrychis sativa angestellt, um zu entscheiden, ob reines Wasser auf Pflanzen giftig wirkt, eine Ansicht, die mehrfach behauptet wie bestritten wurde. Unsere Kulturen bestätigten die Ansicht der Autoren, welche die Giftigkeit reinen destillierten Wassers auf Pflanzen annehmen.

5. Untersuchung des Mitscherlich-Bauleschen Wirkungsgesetzes an Kulturen von Aspergillus niger[1])

Von Hans Söding[2])

Nach dem alten Liebigschen Gesetz soll das Wachstum einer Pflanze abhängen von dem Wachstumsfaktor, der im Minimum vorhanden ist, so wie die Reißfestigkeit einer Kette von der Stärke ihres schwächsten Gliedes. Ist z. B. von Kali nur ein Zehntel der zum Höchstertrage nötigen Menge im Boden, so ist es danach gleichgültig, ob von der erforderlichen Phosphatmenge 20, 50 oder 100% zugegen sind; das im „Minimum" befindliche Kali regiert allein den Ertrag. Demgegenüber war das „Wirkungsgesetz" von Mitscherlich-Baule ein Fortschritt; nach ihm wird der Ertrag von sämtlichen Wachstumsfaktoren bestimmt. Der Wirkungsfaktor eines jeden Nährstoffes soll nach diesem Gesetz vollkommen unabhängig sein von der vorhandenen Menge der übrigen Nährstoffe wie überhaupt von den gesamten Nebenbedingungen. Ein Beispiel mag das veranschaulichen. Es reiche etwa die im Boden vorhandene Kalimenge aus, um einen bestimmten Bruchteil des bei vollständiger Düngung erreichbaren Höchstertrages A, etwa $\frac{1}{m} \cdot A$, zu erzielen; entsprechend reiche die Phosphatmenge zu dem Ertrage $\frac{1}{n} \cdot A$. Wird nun weder mit Kali noch mit Phosphat gedüngt, so ist nach Liebig der Ertrag $\frac{1}{m} \cdot A$ oder $\frac{1}{n} \cdot A$, je nachdem, ob das Kali oder das Phosphat im Minimum ist. Nach Mitscherlich-Baule ist er hingegen weit kleiner, nämlich $\frac{1}{m} \cdot \frac{1}{n} \cdot A$. Gegen dieses „Wirkungsgesetz" erhoben sich nun mancherlei

---

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) Söding, H., Untersuchungen an Aspergillus niger über das Mitscherlich-Baulesche Wirkungsgesetz der Wachstumsfaktoren. Planta, Bd. 6, 1928, S. 482.

Bedenken, da nicht alle Versuchsbefunde sich mit ihm deckten. Wegen der zahlreichen Fehlerquellen, die bei Versuchen mit höheren Pflanzen nicht vermieden werden können, unternahm ich es, das Gesetz an einem Pilz, Aspergillus niger, nachzuprüfen. Hier konnte ich die Nebenbedingungen annähernd konstant halten. Es ergab sich, daß keines der beiden genannten Gesetze zutraf; der Ertrag war stets größer als nach dem Wirkungsgesetz, aber kleiner als nach Liebig. Da das Wirkungsgesetz nun für die verhältnismäßig einfachen Lebensbedingungen einer Pilzkultur bereits nicht gilt, ist es für die viel verwickelteren Verhältnisse, unter denen sich eine höhere Pflanze befindet, wohl erst recht nicht anzunehmen. Dies Ergebnis stimmt überein mit denen zahlreicher anderer Forscher an höheren und niederen Pflanzen.

6. Untersuchungen über den Nährstoffgehalt von Böden mittels der Aspergillusmethode[1])

Von Hans Söding

Zur Untersuchung eines Bodens auf seine Düngebedürftigkeit stehen verschiedene Methoden zur Verfügung, von denen aber keine ideal ist. Bei der chemischen Untersuchung des Bodens auf seinen Nährstoffgehalt ist es zweifelhaft, ob die nachgewiesenen Nährstoffmengen den Pflanzen auch wirklich zugänglich sind. Daher wurden von mehreren Forschern biologische Methoden entwickelt, d. h. man suchte aus dem Wachstum von Pflanzen, z. B. Hafer, in einer Probe des betr. Bodens Rückschlüsse zu ziehen auf dessen Nährstoffgehalt (Mitscherlich). Die Methode hat oft gute Ergebnisse geliefert, doch ist sie etwas zeitraubend und umständlich. Neubauer dagegen analysierte chemisch die Pflanzen, die in der betr. Bodenprobe gezogen waren, und bestimmte so die aus dem Boden von den Pflanzen aufgenommenen Nährstoffmengen. Diese Methode stellt, wenn sie zu brauchbaren Ergebnissen führen soll, hohe Anforderungen an den Untersucher. Das Ziel der unten genannten[2]) Arbeit war es nun, eine einfache, zuverlässige, rasch arbeitende Methode der Bodenuntersuchung zu finden. Bereits Butkewitsch (1909) hatte die Möglichkeit vorgeschwebt, aus dem Wachstum von Pilzkulturen in einer Lösung mit Bodenzusatz auf den Nährstoffgehalt dieses Bodens zu schließen. Verschiedene Mikroorganismen wurden von uns auf ihre Eignung als „Indikatoren" des Nährstoffgehaltes einer zugesetzten Bodenprobe geprüft. Am besten geeignet war Aspergillus niger, den auch der Russe bereits dazu ausersehen hatte. Wir verglichen das Wachstum des Pilzes in einer etwa kalifreien Lösung mit Bodenzusatz mit demjenigen auf vollständigen Nährlösungen mit gestaffeltem Kaligehalt und konnten so den Gehalt der Bodenprobe an für den Pilz aufnehmbarem Kali wenigstens schätzen. Vergleichende Untersuchungen wurden an denselben Böden auch von Herrn Prof. Mitscherlich vorgenommen; ebenso wurden die Böden chemisch analy-

[1]) Aus dem Botanischen Institute zu Münster i. W.

[2]) Benecke, W. und Söding, H., Beiträge zum Ausbau der mikrobiologischen Bodenanalyse. Z. f. Pflanzenernähr., Düngung und Bodenkunde, Teil A, Bd. 10, 1928, S. 129.

siert. Die Verhältniswerte für die einzelnen Böden beim Vergleich untereinander lagen bei der Aspergillusmethode zwischen den Werten der beiden anderen Methoden oder deckten sich mit einer derselben. Diese quantitativen Untersuchungen wurden von Lohmann[1]) weiter geführt. Bezüglich des Kaliums ergab sich bei drei untersuchten Böden befriedigende Übereinstimmung mit anderen Methoden der Bodenuntersuchung, insbesondere auch derjenigen von Neubauer. Der vom Pilz angezeigte Phosphatgehalt war jedoch viel zu groß. Vielleicht ist es möglich, durch einige Änderungen, insbesondere kürzere Kulturdauer, die Methode auch für die Phosphatuntersuchung brauchbar zu machen.

Inzwischen wurde nun die Aspergillusmethode von Niklas und seinen Mitarbeitern aufgegriffen und zwar für die Bestimmung des Kali- und des Phosphatgehaltes ausgebaut. Im einzelnen weicht die Arbeitsweise von Niklas von unserer ab; aber auch bei ihm ist die technische Ausführung nicht sehr schwierig. Welche Genauigkeit nun die Aspergillusmethode zeigen wird, muß die Erfahrung noch lehren. Gewisse Bedenken bestehen insofern, als einige Stoffe, z. B. Humus, Störungen in den Versuchen hervorbringen (Kießling). Übrigens schwebte uns bei der Ausarbeitung der Aspergillusmethode nicht das Ziel vor, möglichst bald dem Landwirt praktisch wertvolle Ratschläge für die richtige Düngung zu geben; wir versuchten vielmehr, der wissenschaftlichen Bodenuntersuchung einen neuen Anstoß zu geben durch Hinweis auf die mikrobiologischen Methoden und glaubten, auf diesem Umweg sowohl der Praxis besser dienen zu können als auch der Wissenschaft. In der ökologischen Pflanzengeographie bricht sich immer mehr die Lehre durch von der großen Verschiedenheit von „Boden und Klima auf kleinstem Raum". Hier bietet sich die Aspergillusmethode zur Untersuchung kleinster Bodenproben dar, da sie nur geringe Bodenmengen benötigt. So wie man früher nur las: kalkhold, kalkfliehend, jetzt aber ein bestimmtes pH-Intervall angibt für die Standorte einer Pflanze, so wird man vermutlich später statt der jetzt üblichen Angaben: verlangt nährstoffreichen Boden usw., angeben, welche Konzentrationen der Nährstoffe denn verlangt werden. Hier ist eine mit ganz kleinen Bodenmengen arbeitende Methode, wie das die mikrobiologische Untersuchung tut, weit im Vorteil und oft allein anwendbar.

[1]) Lohmann, P., Vergleichende Untersuchungen über die Bestimmung des Gehaltes von Böden an Pflanzennährstoffen. Bot. Archiv, Bd. 31, 1931, S. 489.

Autorenverzeichnis

